

GLORIA M. CÓNSOLE-AVEGLIANO

Neuroendocrinología Hipofisiaria


EduLP



NEUROENDOCRINOLOGÍA HIPOFISARIA

NEUROENDOCRINOLOGÍA HIPOFISARIA

GLORIA M. CÓNSOLE-AVEGLIANO



Cónsole Avegliano, Gloria M.
Neuroendocrinología hipofisaria / Gloria M. Cónsole Avegliano. - 1a ed. -
La Plata : EDULP, 2022.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-8475-58-5

1. Medicina. I. Título.
CDD 616.4071

NEUROENDOCRINOLOGÍA HIPOFISARIA

Gloria M. Cónsole-Avegliano

Diseño y diagramación: Erica Anabela Medina



EDITORIAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA (EDULP)
48 N.º 551-599 / La Plata B1900AMX / Buenos Aires, Argentina
+54 221 644 7150
edulp.editorial@gmail.com
www.editorial.unlp.edu.ar

Edulp integra la Red de Editoriales de las Universidades Nacionales (REUN)

Primera edición, 2022

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11723
© 2022 - Edulp
Impreso en Argentina

Dedicatoria

Al Dr. Bernardo Houssey quien fuera motivador inicial en mi tarea de investigación cuando visitaba el Instituto de Fisiología de La Plata, dirigido por el Prof. Dr. Ricardo R. Rodríguez.

Al Dr. Eduardo Charreau que me alentó en la etapa más difícil de mi carrera de Investigadora.

A mi esposo Dr. Hugo Avegliano, a mis hijos Gustavo y Guillermo y a mis queridos nietos Bianca y Lorenzo.

A Dios: generador de las fuerzas para desarrollar mi vocación Docente-Investigadora y para vencer los numerosos obstáculos que me permitieron llegar a los logros obtenidos.

ÍNDICE

Prefacio del Prof. Dr. Rodolfo Goya	12
Prefacio de la autora	13
Agradecimientos	14

CAPÍTULO 1

Organogénesis hipofisaria

1.1 Organogénesis hipofisaria: esbozos.....	15
1.2 Organogénesis hipofisaria molecular.....	17
1.3 Histoembriología hipofisaria molecular.....	19
1.4 Factores y vías de señalización del primordio pituitario	22
1.4.1 Proteínas de homeodominio.....	22
1.4.2 Proteínas de homeodominio de clase pareada	23
1.4.3 Factores de transcripción del homeodominio LIM.....	25
1.4.4 Factores de transcripción Sox.....	26
1.4.5 Vías de señalización de Wnt/Notch	27
1.5 Factores intrínsecos de la bolsa de Rathke	30
1.6 Regulación del desarrollo de la bolsa de Rathke por el diencéfalo ventral	31
1.7 Factores del ectodermo oral	36
1.8 Moléculas de señalización	37
1.9 Factores de transcripción especificadores del linaje pituitario	37
1.10 Influencia hormonal en la diferenciación pituitaria	46
Referencias	47

CAPÍTULO 2

Células madre hipofisarias

2.1 Tipos de células madre.....	52
2.2 Detección de las células madre en la zona marginal	54
2.3 Marcadores moleculares de las células madre hipofisarias	56
2.4 Función de las células madre hipofisarias	58
2.5 Placodas craneales: células madre pluripotenciales humanas (PSC)	58
2.6 Señalización Notch en la pituitaria posnatal.....	61
2.7 Rol del receptor Ret	62
2.8 Células madre: respuesta a la injuria con regeneración.....	63
2.9 Células madre y apoptosis	64
2.10 Potencial neoplásico de las células folículo-estelares.....	64
2.11 Nestina en la hipófisis normal y en los tumores pituitarios.....	64
2.12 Potencial de las células madre para inducir tumores hipofisarios	65
2.13 Adenomas hipofisarios: ¿fallo de los mecanismos apoptóticos?	65
2.14 Rol de las células madre en los craneofaringiomas	65
Referencias	67

CAPÍTULO 3

Morfología y Fisiología hipofisaria

3.1 Componentes del sistema endocrino.....	69
3.2 Eje hipotálamo-hipofisario-órgano blanco	69
3.3 Anatomía de la hipófisis (pituitaria)	70
3.4 Regiones hipofisarias.....	72
3.5 Poblaciones hipofisarias.....	73
3.5.1 Pars distalis.....	73
3.6 Interacciones paracrinas en las células adenohipofisarias.....	79
3.6.1 Ultraestructura de la conexión entre células adenohipofisarias	85
3.7 Células multihormonales.....	87
3.8 Pars intermedia	87
3.9 <i>Pars tuberalis</i>	88
3.10 <i>Pars neural</i>	89
3.11 Histofisiología	89
3.11.1 Eje somatotropo	90
3.11.2 Eje lactotropo.....	92
3.11.3 Eje gonadotropo	94
3.11.4 Eje tirotrópico.....	95
3.11.5 Eje corticotropo.....	96
3.11.6 Población folículo-estelar.....	98
Referencias	99

CAPÍTULO 4

Ultraestructura hipofisaria

4.1 Estudios ultraestructurales	104
4.2 Población somatotropa	105
4.3 Población lactotropa.....	107
4.4 Población gonadotropa	109
4.5 Población tirotrópica.....	112
4.6 Población cromófoba	113
4.7 Población corticotropa.....	113
4.8 Población folículo-estelar	114
4.9 Células plurihormonales.....	114
4.10 Tamaño de los gránulos secretorios	115
4.11 <i>Pars intermedia</i>	115
4.12 <i>Pars tuberalis</i>	115
4.13 <i>Pars neural</i>	115
Referencias	116

CAPÍTULO 5

Tumorigénesis hipofisaria

5.1 Mutaciones génicas.....	118
5.2 Desregulación del ciclo celular	120
5.3 Factores hipotalámicos, intrapituitarios y/o periféricos.....	123
5.3.1 Ciclinas: D1, D3, E	124
5.3.2 Quinasas dependientes de ciclinas: CDKs	125
5.3.3 Proteína del retinoblastoma: pRB	127
5.3.4 Gen transformador del tumor hipofisario: PTTG (securina)	127
5.3.5 Wnt- β catenina	130
5.3.6 p27/Kip1	132
5.3.7 Vías de señalización de Notch y Hedgehog	136
5.3.8 Proteínas HMGA 1 y 2	138

5.3.9 GADD45y	139
5.3.10 MEG3.....	140
5.4 Factores angiogénicos	141
Referencias.....	142

CAPÍTULO 6

Histopatología hipofisaria

6.1 Hipofisitis.....	149
6.2 Adenomas hipofisarios.....	150
6.2.1 Somatotropinomas.....	153
6.2.2 Prolactinomas.....	155
6.2.3 Mamosomatotropinomas.....	156
6.2.4 Corticotropinomas.....	157
6.2.5 Adenoma de células de Crooke.....	159
6.2.6 Tirotropinomas.....	159
6.2.7 Gonadotropinomas.....	160
6.2.8 Adenomas plurihormonales.....	160
6.2.9 Adenomas de células nulas.....	160
6.2.10 Adenomas atípicos.....	161
6.3 Carcinomas hipofisarios.....	161
6.4 Oncocitomas fusocelulares.....	162
6.5 Quistes de la bolsa de Rathke.....	162
6.6 Craneofaringiomas.....	163
6.7 Pituicitomas.....	163
6.8 Tumores de células granulares.....	164
6.9 Cordomas selares.....	164
Referencias.....	165

CAPÍTULO 7

Genética de las endocrinopatías hipofisarias

7.1 Cromosomas y genes.....	167
7.2 Etiología de las enfermedades genéticas.....	169
7.3 Genética del hipopituitarismo congénito.....	172
7.4 Genética del gigantismo y la acromegalia.....	173
7.5 Genética del enanismo y la acondroplasia.....	176
7.6 Genética de la enfermedad de Cushing (EC) y del síndrome de Cushing (SC).....	178
7.6.1 Enfermedad de Cushing (EC).....	179
7.6.2 Síndrome de Cushing (SC).....	181
7.7 Genética del complejo de Carney (CNC).....	183
7.8 Genética de la diabetes insípida (DI).....	184
7.9 Genética de los adenomas hipofisarios.....	186
Referencias.....	194

CAPÍTULO 8

Epigenética de los adenomas hipofisarios

8.1 Epigenética.....	197
8.2 Mecanismos epigenéticos.....	197
8.2.1 Metilación del ADN.....	198
8.2.2 Modificación postraducciona de las histonas.....	199
8.2.3 Metilación de las histonas.....	199
8.2.4 Acetilación de las histonas.....	200
8.2.5 Silenciamiento génico.....	201
8.3 Epigenética de los tumores hipofisarios.....	201

8.4 Epigenética de los adenomas hipofisarios	210
8.5 Epigenética de la acromegalia	215
Referencias	216
CAPÍTULO 9	
Hipófisis y envejecimiento	
9.1 El proceso de envejecimiento.....	218
9.2 Población lactotropa envejecida.....	221
9.3 Población somatotropa envejecida	228
9.4 Población tirotrópica envejecida.....	233
9.5 Población corticotropa envejecida.....	239
9.6 Población gonadotropa envejecida.....	244
9.7 Población folículo-estelar envejecida	250
9.8 Población folículo-estelar envejecida.....	255
Referencias	263
CAPÍTULO 10	
IGFI y anti-envejecimiento	
10.1 Anti-envejecimiento: transferencia del gen de IGF1	269
10.2 Enfermedad de Parkinson	269
10.3 Enfermedad de Alzheimer.....	271
10.4 Tratamiento de los trastornos neurodegenerativos con IGF-I	273
10.4.1 Vectores adenovirales portadores de IGF-1.....	274
10.4.2 Neuronas hipotalámicas TIDA de ratas envejecidas con terapia a corto plazo	279
10.4.3 Neuronas hipotalámicas TIDA de ratas envejecidas con terapia a largo plazo	281
Referencias	290
CAPÍTULO 11	
Hipófisis y fotoperíodos	
11.1 Fotoperíodos	294
11.2 Población lactotropa sometida a fotoperíodos	296
11.3 Población gonadotropa sometida a fotoperíodos.....	303
Referencias	311
CAPÍTULO 12	
Eje timo-pituitario	
12.1 Sistema inmuno-neuro-endocrino.....	315
12.2 Eje timo-pituitario	317
12.2.1 Eje timo-gonadotropo	318
12.2.2 Eje timo-lactotropo.....	322
12.2.3 Eje timo-somatotropo.....	323
12.2.4 Eje timo-corticotropo.....	325
12.2.5 Eje timo-tirotropo	327
12.3 Timectomía neonatal	329
12.4 Inmunoneutralización de la timulina	330
12.5 Terapia génica neonatal (TGN) en el ratón nude (atímico congénito)	333
Referencias	336
CAPÍTULO 13	
Hipófisis y malnutrición	
13.1 Pituitaria y malnutrición en monos (<i>Saimiri sciureus boliviensis</i>).....	341
13.2 Poblaciones adenohipofisarias y malnutrición	343

13.3 Ultraestructura de las poblaciones adenohipofisarias y malnutrición	345
Referencias.....	348

CAPÍTULO 14

Síndromes asociados a adenomas hipofisarios

14.1 Síndromes asociados a adenomas hipofisarios.....	351
14.2 FIPA: adenomas pituitarios aislados familiares	352
14.3 Síndrome MEN: neoplasia endocrina múltiple	357
14.3.1 Síndrome MEN-1: neoplasia endocrina múltiple tipo 1.....	357
14.3.2 Síndrome MEN-4: neoplasia endocrina múltiple tipo 4.....	363
14.4 Complejo de Carney (CNC)	364
14.5 Síndrome de McCune-Albright (MAS).....	366
Referencias.....	369

CAPÍTULO 15

Receptores de somatostatina (SST) en los tumores hipofisarios

15.1 Receptores de somatostatina en hipófisis (SSTR).....	372
15.2 Origen evolutivo de los receptores de somatostatina.....	374
15.3 Estructura y funciones de los receptores de somatostatina	374
15.4 Tráfico intracelular de los receptores de somatostatina.....	375
15.5 Interacción de receptores de somatostatina y dopamina	376
15.6 Actividad de los receptores de somatostatina independiente del ligando	379
15.7 Vías de señalización reguladas por los receptores de somatostatina	384
15.8 SST e inhibidores de adenilato ciclasa y adenosín monofosfato cíclico (AMPC).....	389
15.9 SST y las fosfotirosina fosfatasas (PTP).....	389
15.10 Receptores de somatostatina en hipófisis y adenomas hipofisarios.....	389
Conclusiones.....	398
Referencias.....	399

CAPÍTULO 16

Clínica y tratamiento de los adenomas hipofisarios

16.1 Adenomas hipofisarios: generalidades	406
16.2 Inmunohistoquímica de los adenomas hipofisarios	409
16.3 Ultraestructura de los adenomas hipofisarios	410
16.4 Diagnóstico de los adenomas hipofisarios	414
16.5 Clasificación clínico-patológica de los adenomas hipofisarios	414
16.6 Clínica de los adenomas hipofisarios.....	414
16.7 Prolactinomas	416
16.8 Somatotropinomas	418
16.9 Mamosomatotropinomas	419
16.10 Corticotropinomas	419
16.11 Tirotropinomas.....	419
16.12 Gonadotropinomas	420
16.13 Adenomas silentes	420
16.14 Adenomas multihormonales.....	420
16.15 Adenomas hipofisarios agresivos	421
16.16 Tratamiento de los adenomas hipofisarios.....	421
Referencias.....	432

CAPÍTULO 17

Clínica y tratamiento de otras endocrinopatías hipofisarias

17.1 Gigantismo-acromegalia.....	440
17.1.1 Gigantismo.....	440

17.1.2 Acromegalia	441
17.2 Enanismo y acondroplasia.....	458
17.2.1 Enanismo.....	458
17.2.2 Acondroplasia.....	460
17.3 Diabetes insípida (DI).....	462
17.4 Síndrome de Cushing (SE) y enfermedad de Cushing (EC).....	468
17.5 Síndrome de Carney (CNC).....	477
17.6 Síndrome de McCune-Albright (MAS).....	480
Referencias	486

CAPÍTULO 18

Prolactinomas experimentales

18.1 Prolactinomas y estrógenos.....	496
18.2 Estereotaxia intrapituitaria y adenovectores	497
18.3 Terapia génica en las poblaciones hipofisarias: estrógenos + Rad-IGF-I.....	498
18.4 Terapia génica en la población lactotropa: estrógenos + Rad-IGF-I	501
Referencias	503

CAPÍTULO 19

Isoformas de PRL

19.1 Secreción de PRL	506
19.2 Sistemas dopaminérgicos	507
19.3 La molécula de PRL.....	508
19.4 Los receptores de PRL.....	509
19.5 Las isoformas de PRL.....	511
19.5.1 Variantes de PRL de diferente PM	512
19.5.2 Isoformas glicosiladas.....	513
19.5.3 Otras variantes de la PRL.....	513
19.6 Actividad biológica de las variantes moleculares de PRL	514
19.7 PRL durante el desarrollo de los hámsteres machos.....	514
19.8 PRL en hámsteres adultos machos en fotoperíodo normal y fotoinhibición	516
19.9 PRL en ratones adultos hembras de cepa salvaje y transgénicos.....	517
19.10 Isoformas de PRL durante el desarrollo de hámsteres machos	518
19.11 Isoformas de PRL en hámsteres durante fotoperíodo normal y fotoinhibición	519
19.12 Isoformas de PRL en ratones hembras de cepa salvaje y transgénicos.....	520
19.13 Isoformas glicosiladas de PRL durante el desarrollo de los hámsteres machos	521
19.14 Isoformas glicosiladas de PRL en hámsteres en fotoperíodo normal y fotoinhibición.....	522
19.15 Isoformas glicosiladas de PRL en ratones de la cepa salvaje y transgénicos.....	523
19.16 Isoformas de carga de la PRL en hámsteres en fotoperíodo normal y fotoinhibición	524
19.17 Isoformas de carga de PRL en ratones de la cepa salvaje y los transgénicos	525
19.18 PRL: actividad biológica y biopotencia de hámsteres inmaduros y adultos en fotoperíodo normal y fotoinhibición	527
Referencias	529

CAPÍTULO 20

Terapia génica hipofisaria

20.1 Terapia génica.....	533
20.2 Estrategias de terapia génica	535
20.3 El ciclo de infección del adenovirus.....	537
20.4 Vectores virales	538
20.5 Transferencia génica pituitaria mediante estereotaxia.....	541
20.6 Medicina regenerativa y genes de Yamanaka.....	544
Referencias	548

Prefacio del Dr. Rodolfo Goya

La obra **Neuroendocrinología hipofisaria** constituye un primer contacto del estudiante universitario y una actualización para endocrinólogos en formación. En tal sentido, el libro puede ser una fuente de motivación para los jóvenes, época marcada por la avidez intelectual y el idealismo, contribuyendo a definir las tempranas vocaciones.

Es importante destacar que la autora, como sobresaliente estudiante mostró un interés apasionado por la Medicina y en su vida profesional, dedicada a la Docencia y la Investigación, transmite lo aprendido de una forma vívida e inspirativa. Por ello, la obra resulta una guía en el aprendizaje de los mecanismos hipofisarios regulatorios a nivel celular y molecular, permitiendo una actualización de conceptos pioneros en el campo de la Endocrinología hipofisaria.

Los capítulos iniciales proveen un comprensivo compendio sobre Organogénesis clásica y Embriología molecular, células madre hipofisarias, Histología con interacciones paracrinas, Ultraestructura, receptores de somatostatina y tumorigénesis, Fisiología e Histopatología hipofisaria, sólo posible de realizar por alguien que ha dedicado décadas de su actividad científica al estudio de la estructura y función hipofisarias.

Los capítulos siguientes permiten la actualización en tópicos multidisciplinarios que consideran aspectos genéticos, epigenéticos, moleculares, red homeostática inmuno-neuroendocrina y eje hipofisario-tímico. Varios capítulos de la obra colocan en un lugar destacado el proceso de envejecimiento hipofisario y en su conjunto ofrecen una aproximación para comprender y quizás revertir su curso. Se analizan también los cambios detectados en las poblaciones adenohipofisarias en malnutrición, fotoperíodos, timectomía, inmunoneutralización y transferencia génica de timulina. Se completa con estudios de las isoformas de la prolactina, prolactinomas experimentales, aportes de la terapia génica, medicina regenerativa y rejuvenecimiento epigenético. El broche final lo aportan la Clínica y la Terapéutica de las endocrinopatías hipofisarias. En su conjunto, la obra se transforma en una herramienta valiosa para el estudio de la Neuroendocrinología hipofisaria y permite apreciar el esfuerzo realizado por la autora para reflejar su experiencia y los avances logrados en el terreno de la investigación creativa.

Dr. Rodolfo G. Goya

Investigador Superior de CONICET

Instituto de Investigaciones Bioquímicas La Plata (INIBIOLP)

Prefacio de la autora

La presente obra de **Neuroendocrinología hipofisaria** integra aspectos moleculares, embriológicos, histopatológicos, inmunológicos, genéticos, epigenéticos, clínicos y terapéuticos de las endocrinopatías hipofisarias. Para ello, se han reunido trabajos de embriólogos, patólogos, inmunólogos, genetistas y endocrinólogos involucrados en su diagnóstico y tratamiento.

La autora se ha desempeñado en diversas especialidades: Patología, Embriología, Inmunología e Histología. Ha sido docente por más de cinco décadas alcanzando el cargo de Profesora Titular, dedicación exclusiva, Cátedra de Citología, Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

También ha desarrollado actividades de Investigación en el área de Neuroendocrinología en la UNLP y en la Comisión de Investigaciones Científicas Bs. As. (CICBA). En la actualidad es Profesora Extraordinaria Categoría Consulta de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

La obra está dirigida a estudiantes y profesionales de la salud, que deseen actualizar los aspectos moleculares, embriológicos, histopatológicos, inmunológicos, genéticos, clínicos y terapéuticos de las endocrinopatías hipofisarias.

La autora ha publicado varios libros:

- Atlas de Histología.
- Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica.
- Embriología molecular de las cardiopatías congénitas.
- Enfermedades moleculares: embriogénesis, genética y epigenética.
- Enfermedades por virus y priones.

Agradecimientos

A la memoria del **Premio Nobel** (1947) *Prof. Dr. Bernardo A. Houssay*, pionero en el estudio de la glándula hipófisis, quien en sus visitas al Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata sembró una pequeña semilla en los jóvenes que tuvimos la dicha de conocerlo (1967).

A quienes despertaron mi vocación por la investigación científica: *Prof. Herberto Prieto Díaz y Prof. Dr. Ricardo R. Rodríguez*. A mi querido Maestro en el estudio de la hipófisis: *Prof. Dr. César Gómez Dumm*.

A quienes me alentaron para retomar las tareas de investigación y docencia en momentos muy difíciles: *Prof. Dr. Eduardo Charrreau, Prof. Dr. Juan Basualdo y Prof. Dr. Alberto D'Ottavio*.

A quien me ayudó de manera incondicional en el estudio del eje hipotálamo-pituitario: *Dr. Rodolfo Goya*.

CAPÍTULO 1

ORGANOGENESIS HIPOFISARIA

1.1 Organogénesis hipofisaria: esbozos

La hipófisis se desarrolla a partir de dos esbozos *ectodérmicos*:

- A) **Epiblastico**: es una evaginación *ectodérmica* ubicada en el techo del estomodeo que origina un divertículo aplanado denominado **bolsa de Rathke**. El esbozo se extiende en profundidad, se pediculiza y forma un canal hipofisario que se abre en la cavidad bucal primitiva (estomodeo).
- B) **Neuroblástico**: se desarrolla un divertículo en el *neuroectodermo* del diencéfalo que se extiende hacia la bolsa de Rathke y se denomina **infundíbulo** (fig. 1.1).

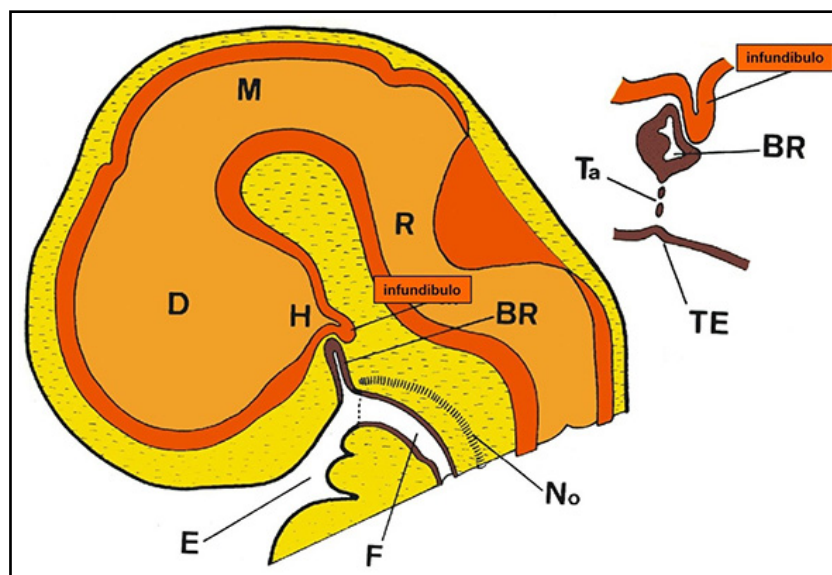


Fig. 1.1 Esbozos epiblastico y neuroblástico. Infundíbulo y bolsa de Rathke (BR). H: hipotálamo; D: diencéfalo; M: mesencéfalo; R: rombencéfalo; No: notocorda; E: estomodeo; F: faringe; TE: techo del estomodeo; Ta: tallo infundibular (Embriología Humana, Gómez Dumm CLA y col., 2003).

La **bolsa de Rathke** se cierra y el **canal hipofisario** se transforma en el **tracto faringo-hipofisario** que desaparece cuando se desarrolla el hueso esfenoides. La bolsa de Rathke engrosa su pared y se separa del techo del estomodeo por una involución del tallo infundibular (semana 8) y en ese momento, ambos esbozos toman contacto.

La bolsa de Rathke presenta dos hojas:

- A) **Hoja anterior**: con dos divertículos laterales y uno anteromedial que tiende a desarrollarse lateralmente y muestra gran actividad mitótica. En el curso del tercer mes de vida intrauterina, la hoja anterior proliferante constituye el **lóbulo anterior** y la hendidura residual tiende a borrarse.

B) Hoja posterior: sus células permanecen en estado de reposo.

El hueso esfenoides forma una cavidad que aloja el primordio hipofisario (semana 11). La pared de la bolsa de Rathke origina: *pars distalis*, *pars tuberalis* y *pars intermedia* de la glándula, cuyo conjunto comprende la **adenohipófisis**.

La **hipófisis** envía señales a varios órganos diana para regular procesos vitales como el crecimiento, la pubertad, el metabolismo, la respuesta al estrés, la reproducción y la lactancia. La glándula, situada dentro de la silla turca en un receso en el hueso esfenoides, se compone de la **adenohipófisis** (lóbulos anterior e intermedio) y la **neurohipófisis** (lóbulo posterior). Los procesos que determinan el destino celular, los patrones de migración y la ubicación final de las diferentes células endocrinas durante el desarrollo de la bolsa de Rathke embrionaria requieren de un **programa genético**.

El **lóbulo posterior** contiene pituitocitos y proyecciones axonales terminales de las neuronas magnocefalares de los **núcleos paraventricular y supraóptico** del hipotálamo que secretan **oxitocina**, necesaria durante el parto/lactancia y la **arginina vasopresina** regula el equilibrio osmótico.

El **esbozo neuroblástico** conserva su relación con la vesícula diencefálica. La extremidad distal se elonga y toma contacto con las áreas laterales de la hoja anterior de la bolsa de Rathke. El eje está ocupado por una cavidad elongada denominada **receso infundibular**. La **neurohipófisis** se forma a partir del **infundíbulo**.

Por otra parte, el **tejido mesenquimático** se diferencia en el **conectivo-vascular estromal** y en la **cápsula glandular** (semana 12).

El **hipotálamo** es la principal estructura neural que regula la homeostasis en los vertebrados. Existen arborizaciones terminales neurales en la eminencia media que liberan factores reguladores de la liberación de hormonas en las células endocrinas pituitarias.

En la **fig. 1.2** se muestra el desarrollo hipofisario (Kelberman, 2009).

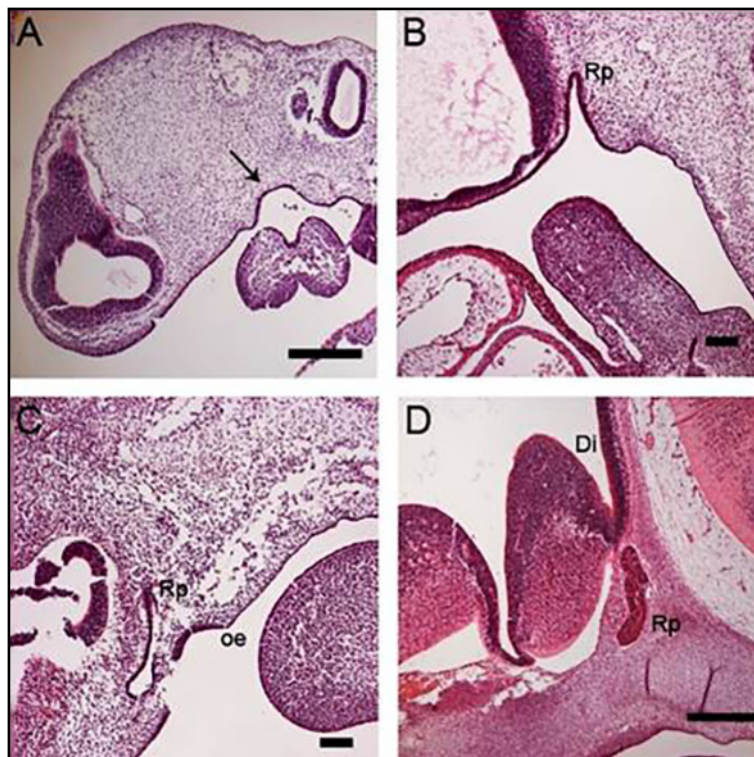


Fig. 1.2 Desarrollo hipofisario (Kelberman, 2009).

A. Embrión estadio *Carnegie 13* (5 semanas) mostrando la *invaginación del ectodermo oral* para formar la *bolsa de Rathke* (flecha). **B.** Se muestra el desarrollo de la *bolsa de Rathke* (Rp) que va a tomar contacto con el *neuroectodermo*. **C.** Embrión *Carnegie 15* mostrando la *bolsa de Rathke definitiva* separada del *ectodermo oral* (oe). **D.** *Bolsa de Rathke definitiva* (Rp) totalmente separada del *ectodermo oral*, manteniendo contacto con el *neuroectodermo del diencefalo* (Di), *Carnegie 17*.

Los **factores hipotalámicos** se transportan rápidamente a través del sistema sanguíneo portal hipofisario a la adenohipófisis, donde regulan la proliferación de células endocrinas, la síntesis de hormonas y su liberación. Las conexiones neurales y vasculares son transportadas por el **tallo pituitario**, que se encarga de transmitir toda la información desde el hipotálamo a la glándula pituitaria.

1.2 Organogénesis hipofisaria molecular

El desarrollo normal del eje hipotálamo-hipofisario depende de una cascada genética de **factores de transcripción y de moléculas de señalización** que regulan la diferenciación tisular y el balance entre proliferación y apoptosis. La organogénesis hipofisaria implica **señales extrínsecas** proveedoras de **morfógenos** que crean un microambiente para la aparición de las **células madre**. Las **señales extrínsecas** actúan sobre **programas intrínsecos** autónomos que inducen patrones de expresión en una cascada de **factores de transcripción y de moléculas de señalización** para cada tipo celular, constituyendo una *genealogía hipofisaria*. Las mutaciones génicas de dichos factores y moléculas originan alteraciones en la histogénesis pituitaria, explicando el *hipopituitarismo*. Se requieren 3 *cajas homeóticas* que resultan críticas para la diferenciación de las poblaciones hipofisarias: **a. Lhx3, Lhx4 y Tif1. b. Pit1. c. Prop1** (cuadro 1.1).

El cuadro 1.1 presenta la **expresión de factores de transcripción hipofisarios**.

Gen	Bolsa Rathke	ACTH	GH	PRL	TSH	LH/FSH
Drd2				X		
Egr1			X	x	X	X
Ftzh1						X
Gata2					X	X
Hesx1	X					
Isl-1	X					
Lbd1,3				X	X	
Lhx2.		x	x	x	X	X
Lhx3	X	X	X	X	X	X
Lhx4	X					
Msx1	X				X	
Nhlh2	X					
Nkx3.1	X					
Otx1						X
Pax6	X					
Pit1			X	X	X	
Pitx1	X	X	X	X	X	X
Pitx2	X	X	X	X	X	X
Prop1	X					
Six1	X					
Six3	X					
Tef				x		
Titf2	X					
Zfp15			X			

X: alta expresión, x: baja expresión (Burrows y col., 1999).

En el proceso de **organogénesis molecular** se pueden señalar 3 fases:

- **Fase 1:** señal de la *proteína morfogénica ósea* (**BMP**) en el diencéfalo ventral que expresa **BMP-4**, **Wnt5a** y **FGF-8**.
- **Fase 2:** se presenta un centro pituitario organizador ventral con señal **BMP2** y expresión de **Shh**. La señal **BMP-2** junto con la señal **FGF-8** dorsal, crean gradientes de oposición generando factores de transcripción que determinan cada linaje celular pituitario, necesiéndose **Wnt4** para la expansión de los fenotipos ventrales.
- **Fase 3:** se requiere la pérdida temporal de la señal **BMP-2** para permitir la diferenciación terminal. Los diferentes tipos celulares pituitarios siguen un gradiente ventro-dorsal que conforman la organogénesis pituitaria (Dasen y Rosenfeld, 1999b).

Las mutaciones en los genes explican una pequeña proporción de casos de **hipopituitarismo** en humanos. Sin embargo, estas mutaciones han llevado a una mayor comprensión de las interacciones genéticas que conducen al desarrollo pituitario normal. Las mutaciones pueden ser informativas en cuanto a los mecanismos subyacentes que impulsan la invaginación y la configuración de la bolsa, la migración celular, el patrón del tejido y la especificación de los destinos celulares. La bolsa de Rathke definitiva contiene **progenitores** proliferativos que se reubicarán ventralmente, lejos de la luz a medida que se diferencian, pero una zona proliferativa con progenitores se mantiene en el embrión en un área periluminal y persiste en el adulto. En la **fig. 1.3** se muestra la organogénesis hipofisaria molecular (Gaston-Massuet, 2008).

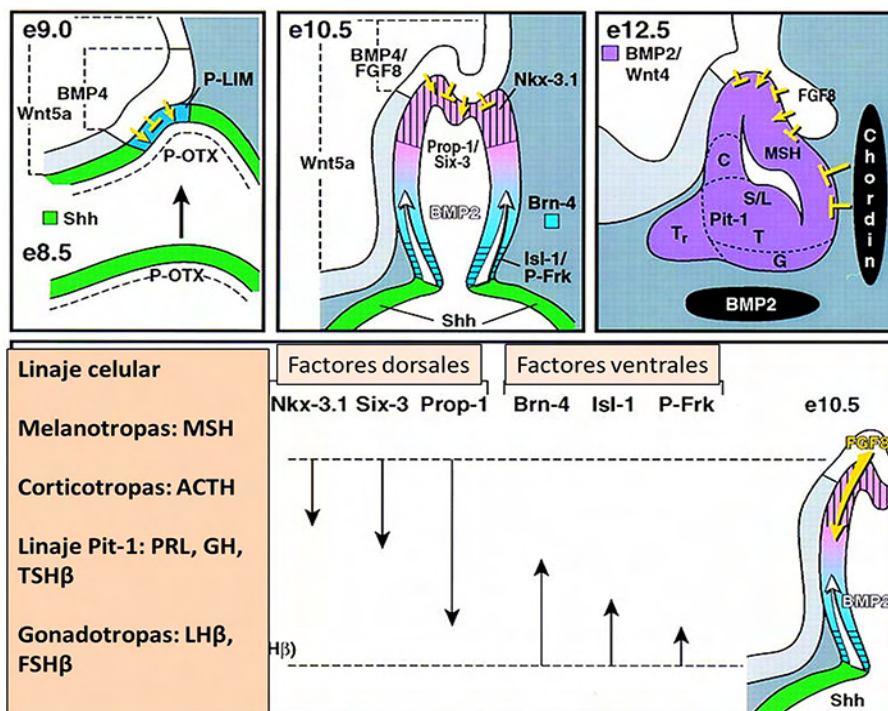


Fig. 1.3 Organogénesis pituitaria molecular (Gaston-Massuet y col., 2008).

e8.5: **Shh** y **P-OTX** se expresan en el *ectodermo oral*. Las señales del *diencéfalo ventral* suprimen la expresión de **Shh** y crean zona de desarrollo del *primordio de la bolsa de Rathke*. Se inducen **P-LIM/LHX3**. El límite entre *ectodermo oral* que expresa **Shh** y la *bolsa de Rathke* actúan como centro organizador para la inducción ventral. **e10.5:** se forman *bolsa de Rathke* e *infundíbulo* que expresan **FGF8** como antagonista de **BMP2** → gradientes de actividad de **BMP ventrodorsal** y **FGF dorsoventral**. **e12.5:** la *bolsa de Rathke* presenta zonas que darán las diferentes poblaciones hipofisarias. **BMP2** (mesénquima) es contrarrestado por la expresión de **FGF8** y de **cordina**. Diferenciación de las poblaciones hipofisarias: **a.** Corticotropas (**C**) y melanotropas (**MSH**) que crecen dorsalmente. **b.** Somatotropas (**S**) y lactotropas (**L**) se ubican en el campo intermedio. **c.** Tirotropas (**T**) y gonadotropas (**G**) que proliferan en sentido ventral.

1.3 Histoembriología hipofisaria molecular.

La regulación del desarrollo de la glándula pituitaria anterior se hace mediante la señalización de proteínas y factores de transcripción (Mullen y col., 2007) (fig. 1.4).

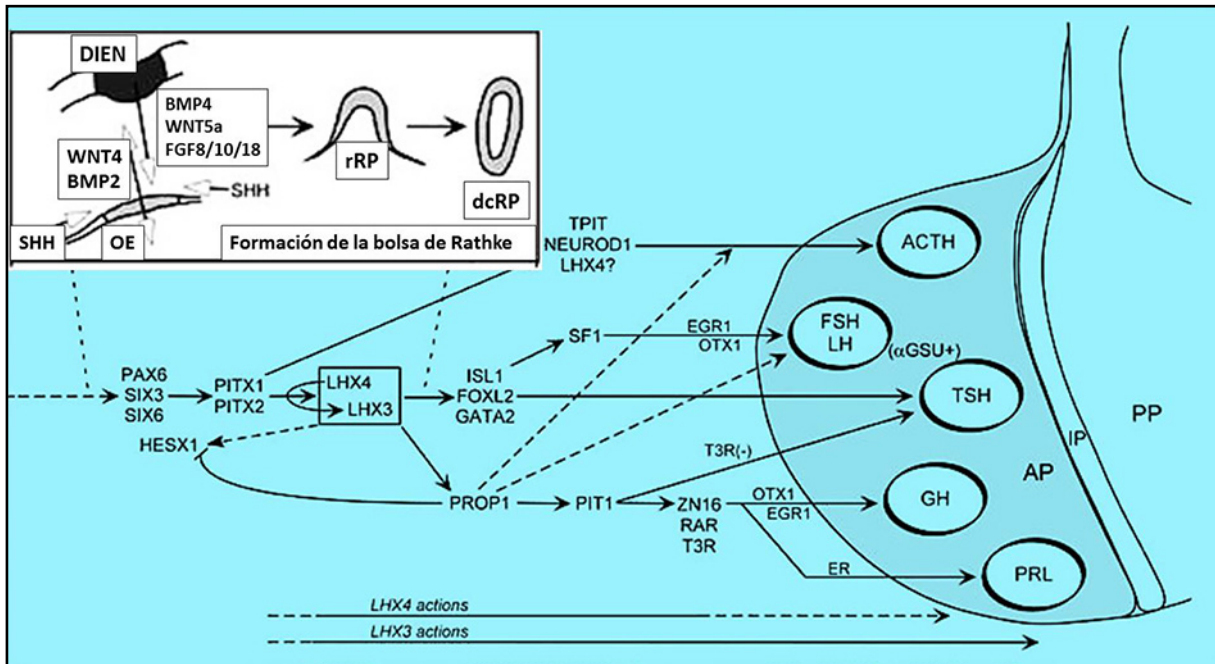


Fig. 1.4 Histoembriología hipofisaria molecular (Mullen y col., 2007).

Las señales inductivas entre el diencéfalo ventral (DIEN) y el ectodermo oral/cresta neural anterior (OE) preceden a la formación de una bolsa de Rathke rudimentaria (rRP); el precursor de la adenohipófisis a partir de la cual se desarrolla la hipófisis anterior. Luego se forma una bolsa de Rathke cerrada definitiva (dcRP). La pituitaria madura tiene tres componentes principales: los lóbulos pituitarios anterior (AP), intermedio (IP) y posterior (PP) (Mullen y col., 2007).

En la fig. 1.5 se observa la histodiferenciación hipofisaria (Dasen y Rosenfeld, 1999b). Se ven: células primordial, comprometida, proliferación, líneas celulares, determinación celular y diferenciación final.

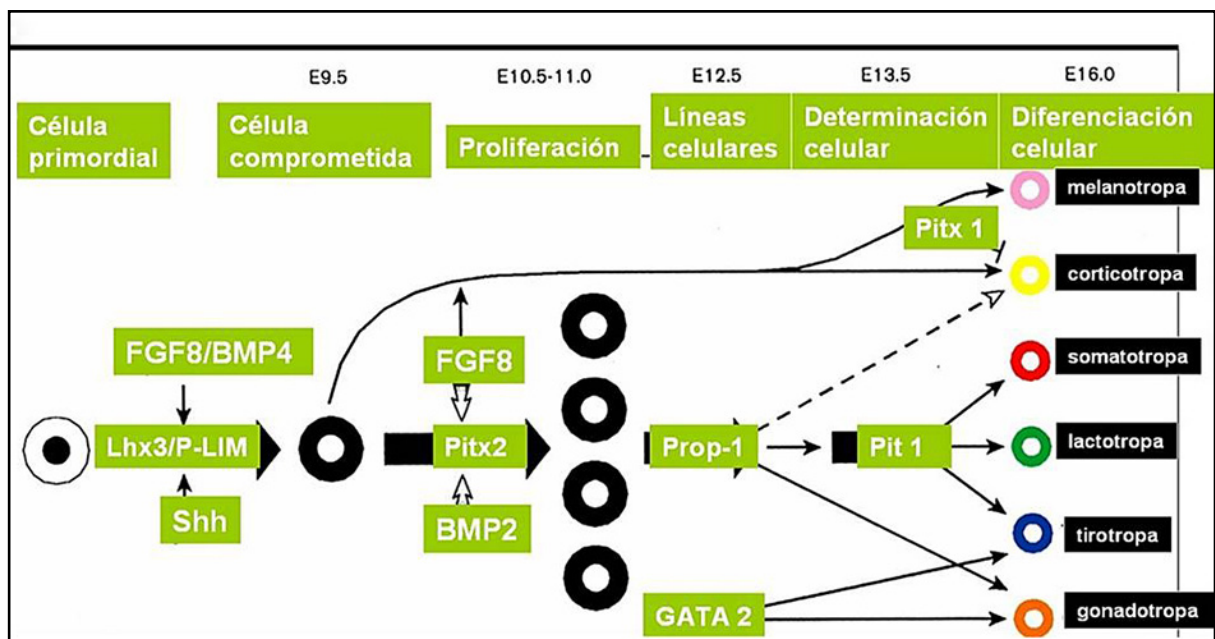


Fig. 1.5 Histoembriología adenohipofisaria (Dasen y Rosenfeld, 1999b).

La **fig. 1.6** muestra las moléculas de señalización en primeras etapas del desarrollo hipofisario.

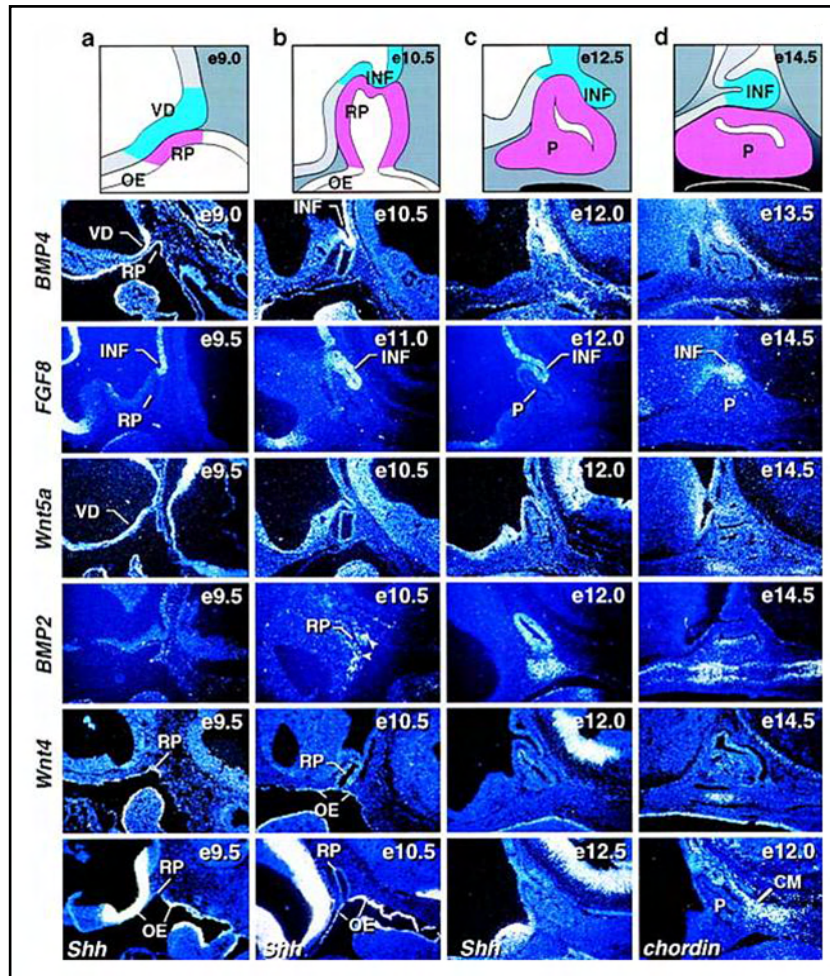


Fig. 1.6 Primeras etapas del desarrollo hipofisario (Treier y col., 2001).

(a-d). Análisis de hibridación *in situ* para **BMP4**, **FGF8**, **Wnt5a**, **BMP2**, **Wnt4**, **Shh** y **cordina** durante las primeras etapas del desarrollo pituitario. **BMP4**: se detecta temprano en el diencéfalo ventral y luego en el infundíbulo. **FGF8**: se expresa de modo temporal en el infundíbulo. **Wnt5a**: se expresa en todo el diencéfalo ventral. **BMP2**: no se detecta expresión cerca de la bolsa de Rathke. **e10.5**: se detecta expresión de **BMP2** en la parte más ventral del ectodermo de la bolsa de Rathke y en células mesenquimáticas adyacentes (flechas). **e12.0**: **BMP2** se expresa a lo largo de la bolsa de Rathke. Dos días después, la expresión de **BMP2** se limita a las células periluminales en la bolsa de Rathke. **Wnt4**: se observa en el ectodermo oral y en la bolsa de Rathke durante todo el desarrollo de la glándula pituitaria. **Shh**: se expresa en el ectodermo oral. **Cordina**: antagonista de **BMP**, expresada en mesénquima caudal (CM) adyacente a la bolsa de Rathke. **BMP2** y **Wnt4**: se observan en el mesénquima de condensación.

(INF) infundíbulo; (RP) bolsa de Rathke; (OE) ectodermo oral; (P) pituitaria; (VD) diencéfalo ventral.

Las células endocrinas derivan de una célula progenitora común que depende de factores de transcripción y componentes de nicho. La diferenciación de las células endocrinas está coordinada por factores de transcripción y hormonas periféricas.

En la **fig. 1.7** se observan los **factores progenitores de nicho**, **factores de transcripción** y **hormonas periféricas**.

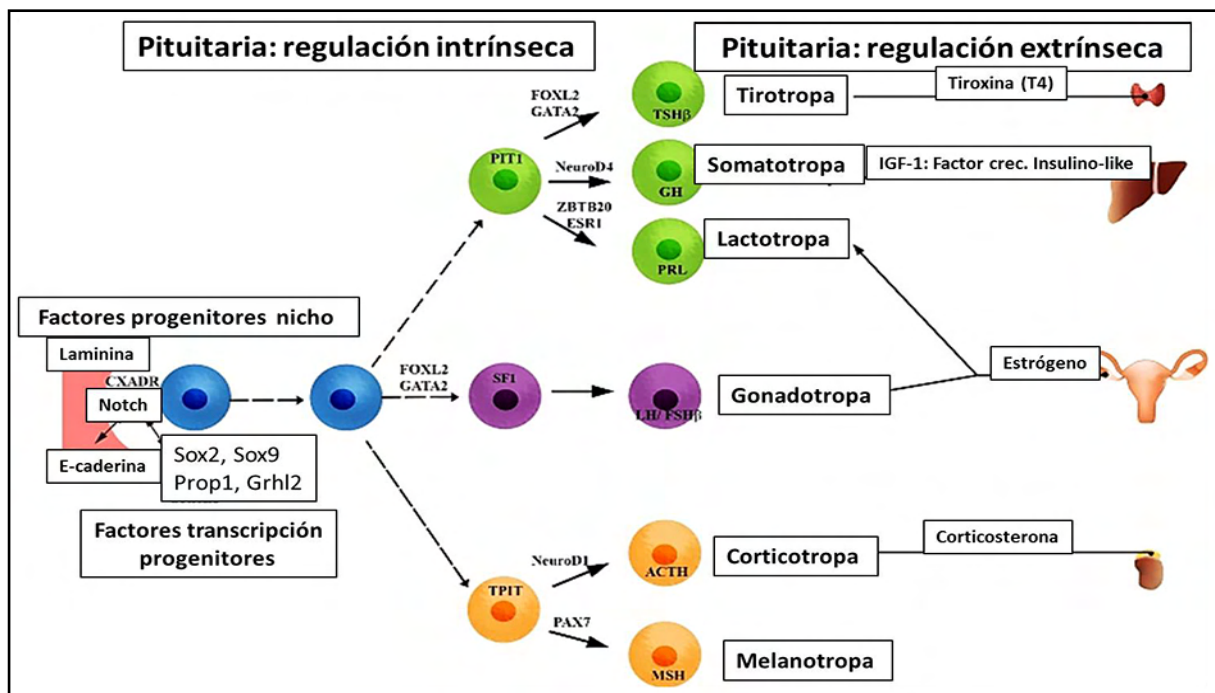


Fig. 1.7 Factores progenitores de nicho, factores de transcripción progenitores y hormonas periféricas (Whitney ED, Raetzman L).

En la **fig. 1.8** se ven los genes implicados en el desarrollo de la hipófisis humana con especial referencia a la diferenciación de las células de la hipófisis (Kelberman D, 2009).

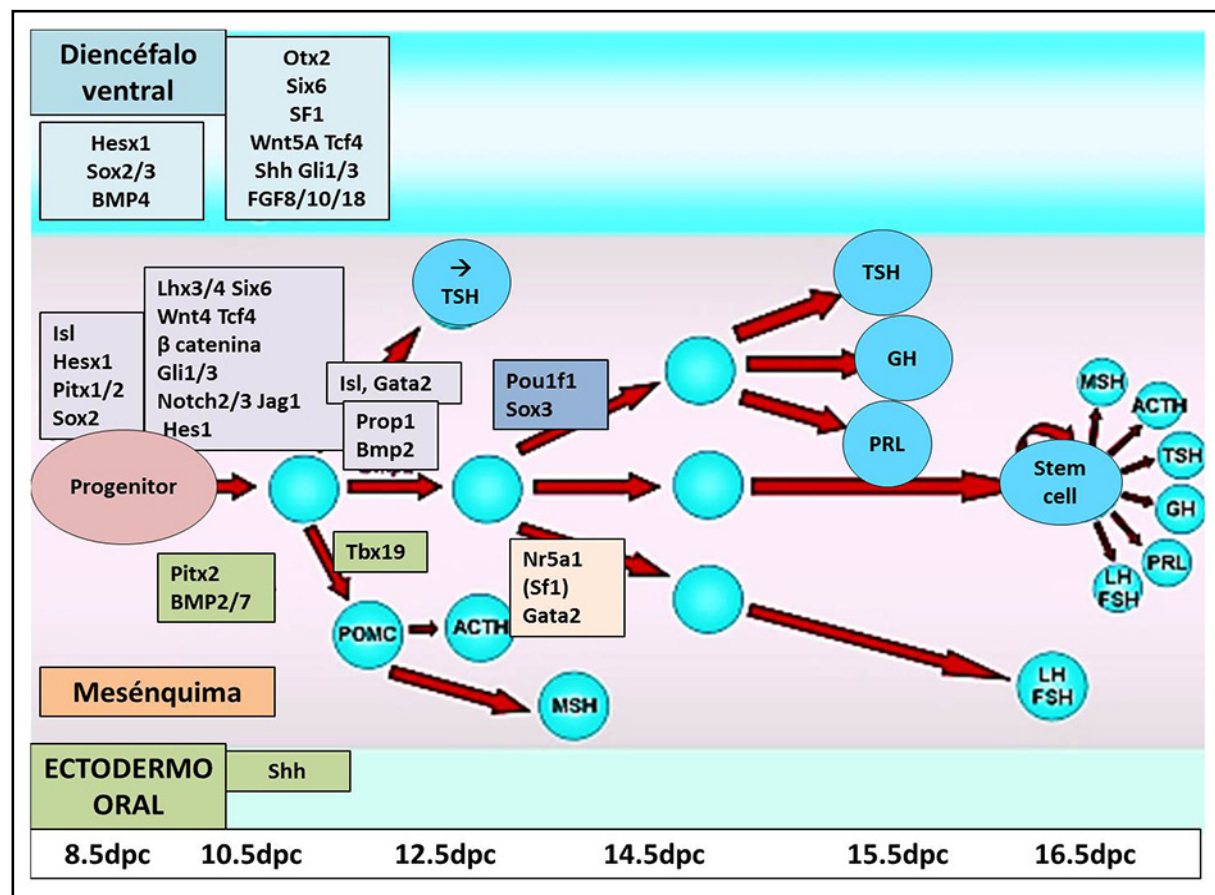


Fig. 1.8 Histoembriología hipofisaria molecular a partir del diencéfalo ventral, mesénquima y ectodermo oral (Kelberman D, 2009).

1.4 Factores y vías de señalización del primordio pituitario

1.4.1 Proteínas de homeodominio

Estas proteínas forman una familia de seis miembros en mamíferos que pueden activar o reprimir la transcripción. Estos factores funcionan en una red compleja.

A. Six-3/Six-6: pueden interactuar con los represores transcripcionales y se vinculan a las vías de señalización con sitios de integración *Wnt*. (Zhu y col., 2002; López-Ríos, 2003).

Para obtener información sobre la función de *Six-3* durante el desarrollo pituitario, se han generado ratones heterocigotos dobles *Six3*^{+/-}; *Hesx1Cre*^{+/+}. Sorprendentemente, estos ratones muestran un marcado *enanismo*, que se detecta por primera vez alrededor del destete y mueren entre la 5ta y 6ta semana de edad. El desarrollo de la tiroides y las gónadas también se ve afectado en estos animales.

Cuatro miembros de la familia *Six* se expresan durante el desarrollo hipofisario; pero el papel exacto de estas proteínas es difícil de determinar. La primera demostración del papel de estas proteínas en el desarrollo pituitario surgió de estudios sobre *Six6*.

El análisis de los embriones compuestos *Six3*^{+/-}; *Hesx1Cre*^{+/+} indica que el *hipopituitarismo* es la causa probable de estos defectos, ya que el desarrollo hipofisario se vio gravemente afectado en estos mutantes. La bolsa de Rathke se expande inicialmente en embriones compuestos *Six3*^{+/-}; *Hesx1Cre*^{+/+} debido a un aumento en la proliferación celular. Luego la glándula pituitaria anterior aparece bifurcada, dismórfica y en ocasiones ectópica, pero la diferenciación celular no está afectada (Gaston-Massuet y col., 2008) (**fig. 1.9**).

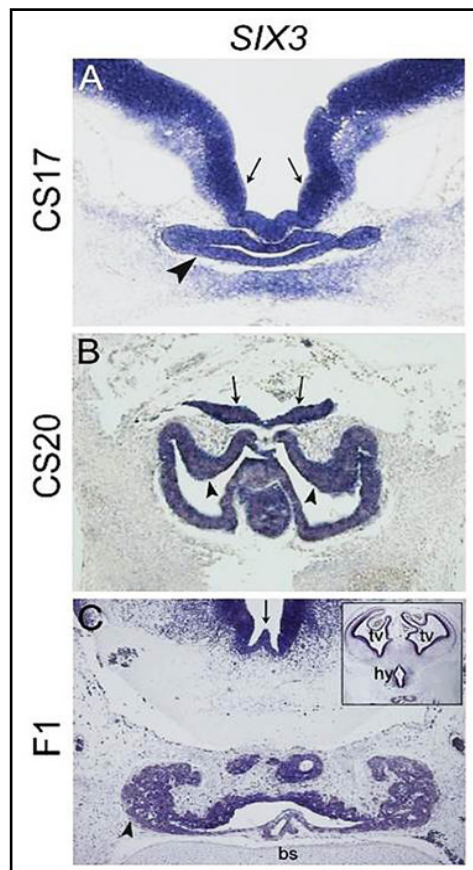


Fig. 1.9 *Six3* se expresa en la hipófisis en desarrollo de embriones humanos.

A-B. *Six3* se expresa en el diencefalo ventral (flechas) y en la hipófisis anterior en desarrollo (punta de flecha). **C. F1:** las transcripciones de *Six3* se detectan en la glándula pituitaria (punta de flecha) y en la zona ventricular del hipotálamo (hy, recuadro), así como en las vesículas telencefálicas (tv, recuadro); bs: cartílago basefenoides (Gaston-Massuet y col., 2008).

El **Six-6** se expresa primero en la **bolsa de Rathke** y luego se restringe dorsalmente en la región periluminal. En la pituitaria adulta, la proteína todavía se expresa con fuerza. **Six6** también se marca en el desarrollo del ojo e hipotálamo. La proliferación hipofisaria reducida sugiere una falta de represión de los inhibidores de la quinasa del ciclo celular **p27kip1**, cuyo promotor está unido *in vivo* por el complejo **Six-6-Dach1** (Li y col., 2003).

1.4.2 Proteínas de homeodominio de clase pareada

A. Hesx-1: factor de transcripción y miembro de una clase pareada de proteínas homeodominio (Thomas y col., 1995) que funciona como represor transcripcional (Rose y col., 2001; Sornson y col., 1996). **Hesx-1** es uno de los primeros marcadores de la **bolsa de Rathke**, presente en la línea media de la cresta neural anterior, donde se desarrolla la placa neural hipofisaria, destinada a formar el prosencéfalo y el diencéfalo ventral.

La activación del promotor 5' de las proteínas del homeodominio **LIM** es necesaria para su expresión temprana, mientras que su región 3' contiene elementos suficientes para la expresión en la **bolsa de Rathke** en desarrollo (Chou y col., 2006). Las deficiencias en prosencéfalo, ojos e hipófisis en los mutantes de **Hesx-1** condujeron a la identificación de diversas formas de hipopituitarismo, incluida la displasia septoóptica (SOD), la deficiencia hormonal pituitaria combinada (CPHD) y la deficiencia aislada de GH (IGHD) (Carvalho y col., 2003; Sajedi y col., 2008).

La **bolsa de Rathke** contiene células progenitoras que se diferencian en células endocrinas de la glándula pituitaria. Da lugar a células gonadotropas, tiotropas, somatotropas, corticotropas y lactotropas en el lóbulo anterior y melanotropas del lóbulo intermedio. Las células precursoras de la hipófisis expresan muchos miembros de la vía de señalización de **Notch**, incluido el gen efector **Hes1** que regula la diferenciación de los precursores y la determinación del destino celular. Las pituitarias de los ratones deficientes en **Hes1** tienen hipoplasia del lóbulo anterior, evidente ya en e14.5. Además, las células del lóbulo intermedio se diferencian en somatotropas en lugar de melanotropas. El represor **Hes1** es esencial para la especificación de melanotropas. El tamaño de la hipófisis se reduce en mutantes **Hes1** (Raetzman y col., 2007) (fig. 1.10).

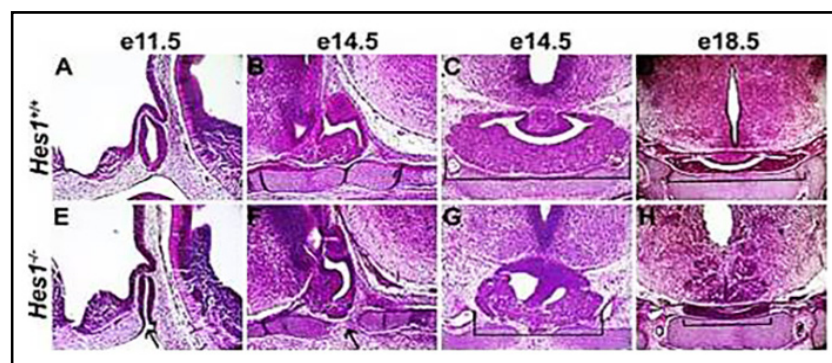


Fig. 1.10 Hes1: morfología de las pituitarias de tipo salvaje y nulas Hes1 (Raetzman y col., 2007).

e11.5: se forma la bolsa del mutante **Hes1**, pero no se separó del ectodermo oral subyacente (flecha, **E**). **e14.5:** las pituitarias de tipo salvaje tienen una placa de cartilago (**B**), pero los mutantes **Hes1** exhiben un espacio entre caras rostral y caudal del cartilago (**F**). La pituitaria anterior de tipo salvaje (**C**, corchete) es mayor que la de **Hes1** mutante (**G**, corchete). **e18.5:** la diferencia de tamaño entre el tipo salvaje (**D**, corchete) y el **Hes1** mutante (**H**, corchete) es aún mayor.

En la **fig. 1.11** se ve la deficiencia de **Hes1** que cambia el destino de las células del lóbulo intermedio a somatotropo. L (Raetzman y col., 2007).

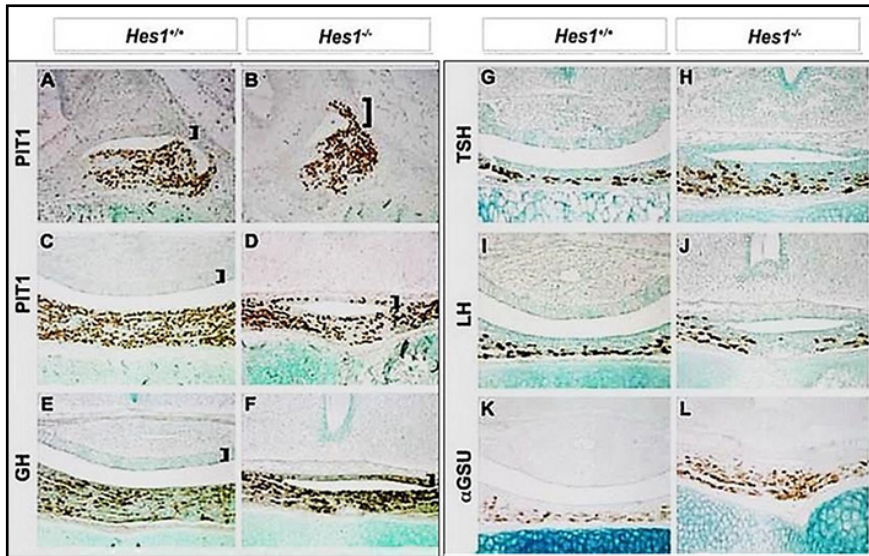


Fig. 1.11 Deficiencia de Hes1 (Raetzman y col., 2007).

Las células inmunorreactivas de **PIT1** normalmente se detectan solo en el lóbulo anterior de los ratones de tipo salvaje en e16.5 (**A**) (**C**). e18.5: el lóbulo intermedio negativo de **PIT1** se indica con un corchete. Los ratones mutantes **Hes1** expresan que **PIT1** aparecen en la parte caudal del lóbulo intermedio en e16.5 (**B**, corchete) y **PIT1** se expresa en todas partes (**D**, corchete). Además, la **GH** se expresa en los lóbulos intermedio y anterior de los mutantes **Hes1** (**F**, corchete), pero solo en el lóbulo anterior de los ratones de tipo salvaje (**E**, corchete). No hay cambios en la inmunotinción de **TSHβ**, **LHβ** o **αGSU** entre el tipo salvaje (**G**, **I**, **K**, respectivamente) y **Hes1** de pituitarias mutantes (**H**, **J**, **L**, respectivamente) en e18.5 (Raetzman y col., 2007).

El modelo genético de desarrollo hipofisario y dependencia de **Hes1** se muestra en la **fig. 1.12**. Durante la organogénesis inicial, **Hes1** es necesario para la *supervivencia y proliferación de los precursores de la bolsa de Rathke* (**A**). **Hes1** también es necesario para que las células del lóbulo intermedio se conviertan en melanotropas y no en somatotropas que contienen **PIT1** (**B**) (Raetzman y col., 2007).

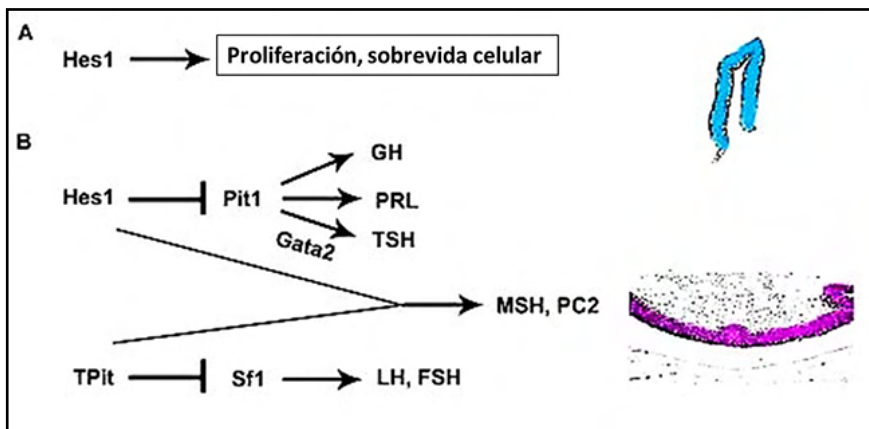


Fig. 1.12 Modelo genético de Hes1 (Raetzman y col., 2007).

Se presume que con la pérdida de **Hes1**, los progenitores hipofisarios ya no se mantienen en un estado proliferativo, eligiendo salir del ciclo celular. Se examinó la expresión de reguladores del ciclo celular en pituitarias de tipo salvaje y deficientes en **Hes1**. Los estudios indicaron que en el desarrollo pituitario temprano (e10.5), las células contenidas en la bolsa de Rathke de mutantes **Hes1** tienen una proliferación disminuida. Además, las pituitarias que carecen de **Hes1** tienen una mayor salida del ciclo celular, que se muestra por aumentos en los inhibidores de quinasas dependientes de **ciclina: p27 y p57**. Las pituitarias mutantes **Hes1** tienen expresión ectópica de **p21** en los progenitores de la bolsa de Rathke, área coincidente con el aumento de apoptosis. Estas observaciones indican un papel de **Hes1** en el control de la salida del ciclo celular y en la mediación del equilibrio entre la proliferación y la diferenciación, lo que permite la aparición de los diferentes tipos de células secretoras de hormonas (Monahan P y col., 2009).

B. Otx-2: es necesario para el desarrollo de la bolsa de Rathke y para la expresión correcta de **Hesx1** en el prosencéfalo (Rhinn y col., 1999). En el ratón, **Otx2** se expresa temprano en el desarrollo y cuando está ausente se altera la gastrulación. Se han identificado mutaciones en **Otx2** en pacientes con trastornos oculares como anoftalmia o microftalmia, con o sin hipopituitarismo (Kellerman, 2009).

C. Pitx-1/2/3: hay 3 proteínas **Pitx** en los mamíferos y desempeñan funciones importantes en diferentes tejidos durante la embriogénesis (Gage y col., 1999). La interacción entre **Pitx1** y el factor de transcripción pituitario **Pou1F-1** (antes denominado **Pit-1**) da como resultado la activación del promotor del gen **Pr1** (Szeto y col., 1996; Tremblay y col., 1998). **Pit1** sinergiza con los factores de transcripción **Neurod-1** y **Tbx-19** (antes llamado **Tpit**) para activar la expresión de **POMC**, mientras que en las gonadotropas activa la expresión de **Lhb** junto con el receptor nuclear de factores de transcripción (factor esteroideogénico 1: **Sf1**). **Pitx1** también sería esencial para mantener la expresión de α Gsu y el receptor de **GnRH** (Poulin y col., 1997; Tremblay y col., 1999), siendo un regulador esencial de **Lhx-3**. La expresión de **Pitx-1** se detectó en 9.5 dpc en todo el ectodermo oral y en la bolsa de Rathke. La expresión se mantiene durante todo el desarrollo de la hipófisis anterior en todos los tipos de células endocrinas (Lanctôt y col., 1997). En la hipófisis adulta, la expresión de **Pitx-1** es más alta en tirotropas y gonadotropas (Szeto y col., 1999).

El **Pitx-2:** muestra un alto grado de identidad de secuencia con **Pitx-1** (Gage y col., 1997; Drouin y col., 1998) y es capaz de activar los promotores de la mayoría de los genes de las hormonas pituitarias (Tremblay y col., 2000; Quentin y col., 2002). Su expresión se mantiene durante el desarrollo de la bolsa de Rathke, en el mesénquima circundante (Semina y col., 1996) y en tirotropas-gonadotropas (Charles y col., 2005). Se demostró que la activación de la vía **Wnt- β catenina** pueden inducir la expresión de **Pitx-2**. Los patrones de expresión de **Pitx-1/2** se superponen durante el desarrollo pituitario temprano. La sobreexpresión de **Pitx-2** en gonadotropas y tirotropas da como resultado una expansión exclusiva de las gonadotropas. Además, el **Pitx-3** tiene un rol importante en la asimetría izquierda-derecha y se implicó en el desarrollo hipofisario que regula cristalino y la placa pituitaria anterior (Dutta y col., 2005).

1.4.3 Factores de transcripción del homeodominio LIM

A. Isl-1: es un miembro de la familia de factores de transcripción del homeodominio **LIM**. Se demostró la expresión combinada de los factores de transcripción **LIM** es importante en diferentes eventos de especificación celular (Bhati y col., 2008) y de proteínas relacionadas que interactúan para regular los genes diana en las células pituitarias (Susa y col., 2009; Cai y col., 2008). **Isl-1** es la primera proteína **LIM** que se expresa durante el desarrollo pituitario y se restringe a la bolsa.

Entre 10.5 y 11.5 dpc, su expresión se restringe a la porción ventral de la bolsa, que comenzará a expresar **Tshb** porque las células se convierten en tirotropas después de 12.5 dpc (Ericson y col., 1998). Luego, forma un gradiente de expresión con mayores niveles de proteína a nivel dorsal (Raetzman y col., 2002). A los 16.5 dpc, **Lhx-3** está presente en toda la hipófisis y la expresión persiste hasta la edad adulta (Sheng y col., 1997).

B. Lhx-3/4: los factores de transcripción del homeodominio LIM de **Lhx-3** y **Lhx-4** desempeñan funciones esenciales en el desarrollo de la glándula pituitaria y el sistema nervioso. Las mutaciones en los genes que codifican estas proteínas reguladoras están asociadas con enfermedades combinadas por deficiencia de hormonas en modelos humanos y animales. Los pacientes con estas enfermedades tienen síndromes complejos que involucran baja estatura con trastornos reproductivos y metabólicos (Mullen y col., 2007). El **Lhx-4** se expresa a lo largo de la bolsa de Rathke con invaginación a los 9.5 dpc. La expresión de **Lhx-4** es transitoria, quedando restringida al futuro lóbulo anterior a los 12.5 dpc y regulada en descenso a los 15.5 dpc (Sheng y col., 1997) (**fig. 1.13**).

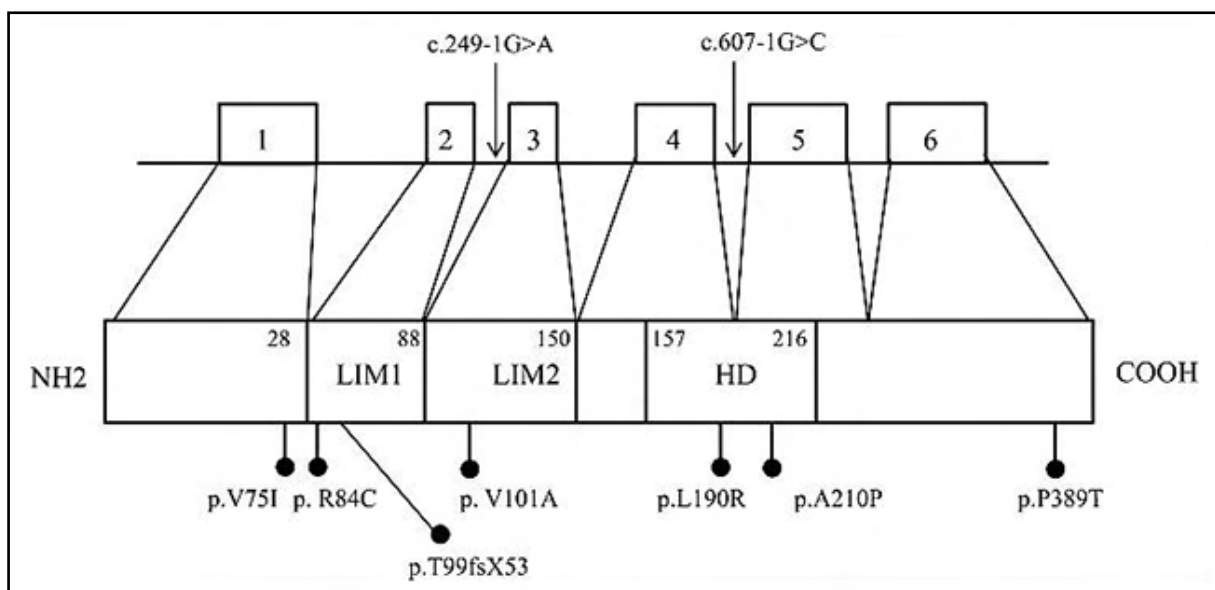


Fig. 1.13 Lhx-4 (Tajima y col., 2009).

Esquema de organización genómica y estructura proteica: las mutaciones de los intrones se indican con flechas. Las mutaciones de sentido erróneo y una mutación de desplazamiento de marco se indican mediante puntos negros. Los números junto a la proteína indican las posiciones de los aminoácidos en los límites de los dominios. Cajas blancas, exón; LIM, dominios LIM; Homeodominio HD.

1.4.4 Factores de transcripción Sox

A. Sox-1/2/3: modulan la actividad génica como factores de transcripción clásicos y participan en el ensamblaje de complejos transcripcionales (Ambrosetti y col., 1997 y 2000). Durante el desarrollo hipofisario, **Sox-2** se expresa en el ectodermo temprano y se mantiene a lo largo de la bolsa. Su expresión desciende cuando avanza la diferenciación de las células endocrinas. La expresión se mantiene alrededor de la luz de la bolsa de Rathke. **Sox-2:** es necesario para el mantenimiento o la proliferación de células progenitoras de la pituitaria en el embrión. También puede estar involucrado con la regulación de la expresión de **Hesx-1** (Kelberman y col., 2006 y 2008). Se demostró que las células **Sox-2+** pueden formar pituisferas en cultivo y son capaces de producir células endocrinas. Estos datos evidencian *in vitro* la presencia de células madre **Sox-2+**. **Sox-3:** es **requerido durante la formación del eje hipotálamo-pituitario** (Rizzoti K y col., 2004).

1.4.5 Vías de señalización de Wnt/Notch

A. Wnt: las vías **Wnt** están implicadas en la proliferación y diferenciación celular (Douglas y col., 2001; Potok y col., 2008; Hayward y col., 2008). Se activa por medio de vías alternativas: 1) Una vía dependiente de β -catenina que afecta la actividad transcripcional; 2) La ruta de polaridad de la célula plana; 3) Una ruta mediada por Ca^{2+} relacionada con la adhesión celular.

- **Wnt/ β -catenina** puede cooperar con otras vías de señalización, en particular la vía de señalización **Notch** (Hayward y col., 2008) y es una vía dependiente de β -catenina que afecta la actividad transcripcional (Kioussi y col., 2002; Briata y col., 2003).

- **Wnt-4:** aparece en el ectodermo oral y en la bolsa de Rathke y determina la expansión de las células pituitarias precursoras (**fig. 1.14**) (Potok y col., 2008).

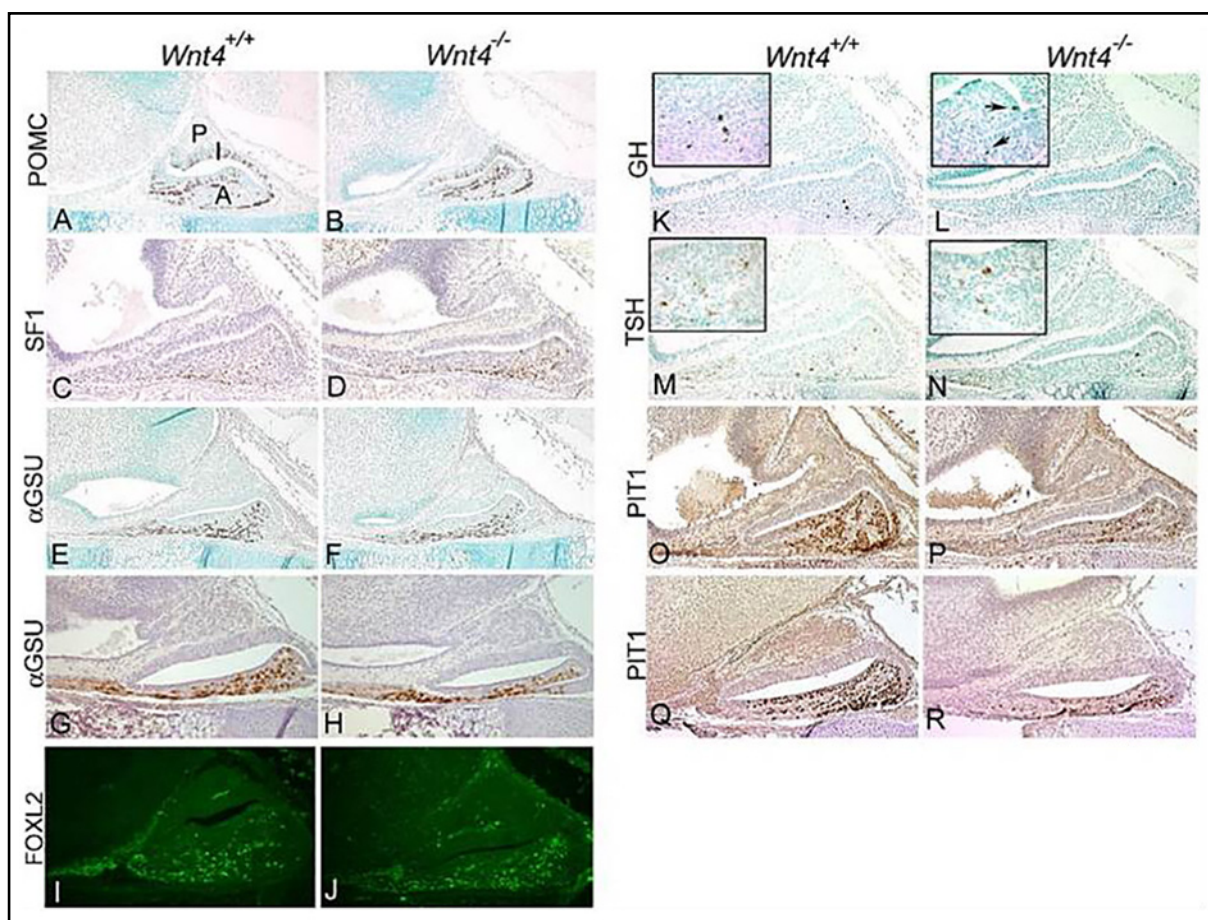


Fig. 1.14 *Wnt-4* (Potok y col., 2008).

Wnt-4: tiene un efecto leve sobre la especificación de las células pituitarias. La inmunotinción de las hormonas hipofisarias revela que cada uno de los principales tipos de células ha comenzado a diferenciarse en e16.5 y e18.5. La **POMC** y su producto de escisión: **ACTH**, no se modifican en el mutante en e16.5 (AB). Factor esteroidogénico 1 (**SF1**): marca pre-gonadotropas, no se modifica en e16.5 (CD). α GSU: compartida por tirotropas y gonadotropas, aparece sin cambios tanto en e16.5 (EF) como en e18.5 (GH), al igual que **Foxl-L2** en e18.5 (IJ). **GH**: presente en e16.5 en el tipo salvaje y mutante (KL). Las puntas de flecha indican somatotropas. **TSH β** : está presente por e16.5 (MN). Recuadros: imagen ampliada de la región del lóbulo anterior. La tinción con **PIT1** identifica pre-somatotropas, pre-lactotropas y pre-tirotropas en tipo salvaje y mutante en e16.5 (OP) y e18.5 (QR). Inmunotinción: FITC o DAB.

- **Wnt-5:** se expresa en diencéfalo (fig. 1.15).

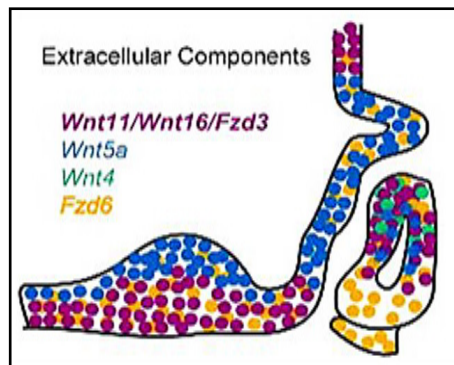


Fig. 1.15 Wnt-11; Wnt-5a; Wnt-4 según colores (Potok y col., 2008).

Wnt-4 tiene una ventana de expresión limitada en la bolsa de Rathke. **Wnt-5a** se expresa en todo el diencéfalo ventral y en la bolsa de Rathke. **Wnt-11, Wnt-16 y Fzd3** se expresan en el dominio rostral del diencéfalo ventral. Su expresión también se ve en la bolsa de Rathke, donde se concentra dorsalmente en e14.5. **Fzd6** se expresa a lo largo de la bolsa y en el diencéfalo ventral.

- **Mutantes Wnt5a:** tienen dominios expandidos de **FGF-10** y de **BMP** en el diencéfalo ventral y un dominio reducido de expresión de **Lhx-3** en la bolsa de Rathke. Los mutantes Wnt4 tienen una diferenciación celular levemente reducida, una expresión reducida de Pouf-1 y una hipoplasia leve del lóbulo anterior. Los mutantes dobles **Wnt4/5a** exhiben un fenotipo hipofisario aditivo de dismorfología e hipoplasia leve. Los mutantes **Wnt6** no tienen un fenotipo hipofisario obvio. La señalización de **Wnt** afecta la expresión génica en el diencéfalo ventral y el crecimiento de la glándula pituitaria.

B. Notch: señalización de muesca.

Las proteínas **Notch** son receptores transmembrana que muestran un dominio extracelular y otro intracelular. En los mamíferos hay 4 receptores **Notch**. Tras la activación por ligandos, el dominio intracelular de **Notch** se libera y se transloca al núcleo donde activa la transcripción a través de su principal efector, la proteína **Rbp**.

Notch-2 y 3, Jagged1 y Hes1 se expresan en 9.5 dpc en la bolsa invaginable y luego, decrecen desde la zona de diferenciación ventral, pero se mantienen a nivel dorsal alrededor del lumen de la bolsa de Rathke (Raetzman y col., 2004).

Para conocer mejor la función de señalización de **Notch**, se eliminó *Rbp-J* en la bolsa de Rathke, lo que resultó en la diferenciación prematura de las corticotropas (**fig. 1.16**) (Zhu y col., 2006).

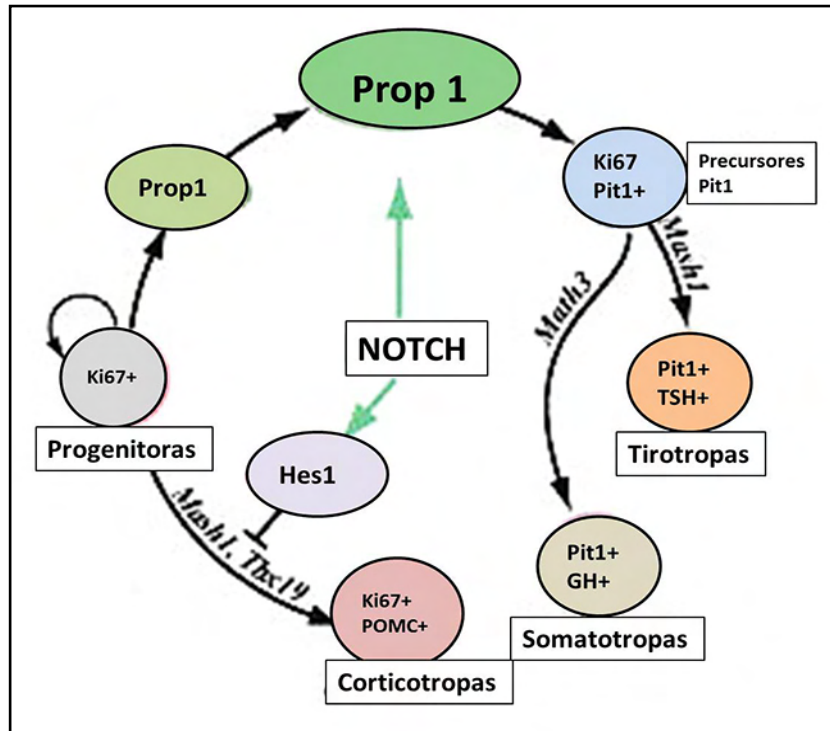


Fig. 1.16 Modelo de señalización Notch en el desarrollo hipofisario (Zhu y col., 2006) La expresión de **Hes-1** regulada por **Notch** mantiene la renovación del progenitor **Ki67+** y previene la diferenciación precoz de corticotropas. **Notch** promueve la regulación de **Prop1** en e12.5 y las unidades progenitoras adoptan el destino de precusores **Pit1+**. **Mash1** y **Math3** son necesarios para el desarrollo adecuado de tirotropas y somatotropas, respectivamente.

En la **fig. 1.17** se observa la localización de los miembros de la familia **Notch** en la hipófisis (Nantie y col., 2014).

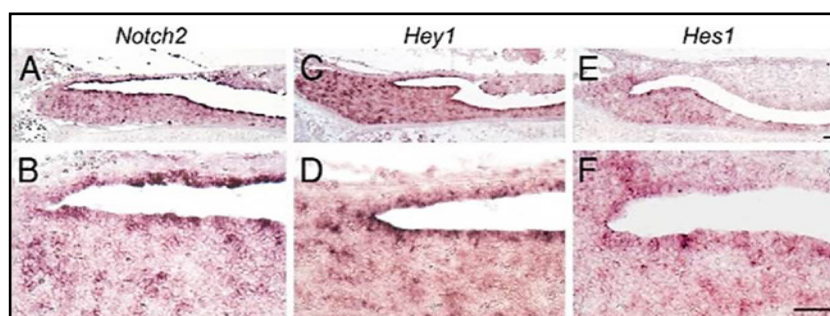


Fig. 1.17 Localización hipofisaria de miembros de la familia Notch (Nantie y col., 2014). La hibridación *in situ* para **Notch2** (A-B), **Hey1** (C-D) y **Hes1** (E-F) revela que los componentes de señalización de **Notch** se localizan principalmente en las células que rodean la hendidura pituitaria.

C. Notch/Notch-caderina.

La señalización de **Notch** en la pituitaria se ha relacionado con la expresión de **Prop-1** que sería clave para el mantenimiento de la proliferación posnatal. Se han identificado los marcadores de las células madre y los factores de transcripción de los diferentes tipos de células productoras de hormonas (Zhu y col., 2006; Chen y col., 2006). La vía **Notch** es dependiente del contacto de célula a célula que

regula el mantenimiento de las células madre y la elección del destino celular. Su activación requiere una célula que exprese un **ligando Notch** para activar un **receptor Notch** en una célula adyacente. La interacción receptor/ligando da como resultado 2 escisiones proteolíticas sucesivas: dominio 10 de desintegrina y metalopeptidasa que libera el dominio extracelular **Notch** del receptor. La segunda escisión por *gamma secretasa* libera el **dominio intracelular Notch (NICD)**, que se transloca al núcleo y regula la transcripción de genes diana mediante la unión de la proteína cofactor para la región J de Ig kappa (**Rbpj**). Los receptores **Notch2/3**, los ligandos **Jagged 1 (Jag1)** y **delta** como el ligando de **Notch canónico 1 (Dl1)**, así como los genes diana canónicos descendentes, los factores **Hes1** y **Hey1**, se detectan en progenitores en proliferación durante el desarrollo pituitario temprano. Durante el desarrollo posnatal y en el adulto, la expresión de estos genes se regula a la baja pero se mantienen en el compartimiento de células madre.

Los modelos genéticos de ratón han proporcionado información útil sobre el papel de la señalización de **Notch**. La pérdida del cofactor de **Notch**: el **Rbpj** o de **Hes1** durante el desarrollo de la hipófisis embrionaria, da como resultado una *hipófisis hipoplásica*. La población progenitora de la hipófisis está enriquecida con componentes de señalización de **Notch** como **caderina 1 (Cd1)**. Parece existir una relación recíproca entre las moléculas de adhesión del nicho pituitario y la actividad de señalización de **Notch**, necesaria para mantener la expresión de **Prop1**, requerido para la generación del linaje **Pit1**. La atenuación de la señalización de **Notch** es necesaria para la diferenciación terminal en células **Pit1+** posmitóticas: El gen diana **Pit1**, reprimido por **Notch**, es necesario para la maduración y proliferación de las somatotropas. Concluyendo, la señalización sostenida de **Notch** en los progenitores es necesaria para la *aparición secuencial de distintos linajes celulares* durante la organogénesis pituitaria (Zhu y col., 2006; Chen y col., 2006).

Las mutaciones en **Prop-1** representan hasta la mitad de los casos de deficiencia combinada de la hormona pituitaria de causas conocidas. Se han identificado pocas moléculas de señalización y vías que influyan en la expresión de **Prop-1**. La señalización de **Notch** se ha relacionado con la expresión de **Prop1**. Se generaron ratones con pérdida condicional embrionaria temprana de **Notch2** y se exmonaron las consecuencias de la inhibición química de **Notch** durante la maduración pituitaria posnatal. Se demostró que la pérdida de **Notch2** tiene poca influencia en la proliferación pituitaria embrionaria temprana, pero es crucial para el mantenimiento y la proliferación de progenitores posnatales. Además, se halló que la señalización de **Notch** es necesaria en el período embrionario y posnatal para la expresión de **Prop1** y la expansión celular de la hormona del linaje **Pit1** robusto, así como para la represión del linaje corticotrópico (Nantie y col., 2014).

D. Proteínas CXADR y ECM.

- **CXADR**: se ha observado en células neuroepiteliales del sistema nervioso central y se cree que facilita la maduración de las uniones estrechas. Sin embargo, la función de **CXADR** en las células madre sigue siendo desconocida.

- **ECM**: son proteínas de la matriz extracelular importantes para el desarrollo, la morfología y la tumorigénesis hipofisaria. Los estudios *in vitro* muestran que las células **S100β+** interactúan con varias proteínas **ECM**, incluidas lamininas, colágenos e integrinas. Estas interacciones regulan la proliferación y las características morfológicas celulares. La **laminina 5α** está presente en las células madre embrionarias pluripotentes. Se sugiere que los componentes de la **ECM** son reguladores importantes del compartimiento del tallo progenitor en la pituitaria en desarrollo.

1.5 Factores intrínsecos de la bolsa de Rathke

A. **Lhx-3**: se detecta en la bolsa de Rathke y contribuye a la formación de la bolsa definitiva. Existe una vía ontogénica **Lhx-3** independiente para la especificación inicial del linaje celular pituitario

(Sheng y col., 1997; Sloop y col., 2001; Zhao y col., 2006; Charles y col., 2005; Zhao y col., 2006; Davis y col., 2016) (fig. 1.18).

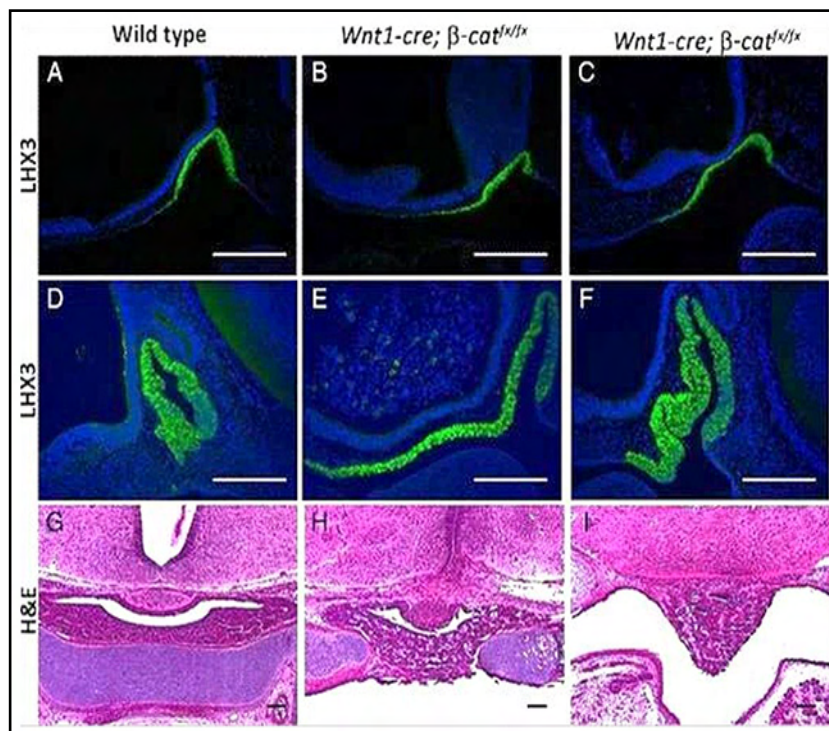


Fig. 1.18 Localización de LHX3 (Davis y col., 2016).

A-F. Inmunotinción de **LHX3** (verde) en cortes sagitales, contrateñidos con DAPI (azul). **A.** Tipo salvaje e10.5. **B-C.** Dos **Wnt1-cre** independientes; embriones $\beta\text{-cat}^{f/fx}$ e10.5. **D.** Tipo salvaje e12.5. **E-F.** Dos **Wnt1-cre** separados; embriones $\beta\text{-cat}^{f/fx}$ e12.5. **B. Lhx-4:** se localiza en la bolsa de Rathke y contribuye a formarla. Además, induce la presencia de las células pituitarias precursoras (Tajima y col., 2007). **C. LIM:** los factores de transcripción **LIM** son importantes en diferentes eventos de especificación celular (Rosenfeld, 1995). **D. Pax-6:** es esencial para el establecer los límites entre las celdas ventral y dorsal en el desarrollo de la pituitaria. La expresión transitoria de **Pax-6** dorsal es clave para determinar las poblaciones dorsales y ventrales, basado en la inhibición de las señales ventrales de **Shh**. **E. Isl-1:** se expresa en la bolsa de Rathke y en el ectodermo oral. Produce la diferenciación temprana de la bolsa de Rathke. **G-H-I.** Tinción con H&E en cortes coronales e18.5. **G.** Tipo salvaje. **H-I.** Dos secciones del mismo embrión **Wnt1-cre; $\beta\text{-cat}^{f/fx}$** . En **I** se representa una ubicación más rostral.

1.6 Regulación del desarrollo de la bolsa de Rathke por el diencéfalo ventral

Las señales del diencéfalo son esenciales no solo para la inducción y el mantenimiento de la bolsa de Rathke, sino también para la regionalización que permite la diferenciación de los diferentes tipos de células endocrinas (Treier y col., 1998; Watanabe y col., 1982a y b; Treier y col., 2001). La evidencia genética de que las señales del ectodermo neural son cruciales para la morfogénesis pituitaria provino de la alteración el factor de transcripción **Nkx2.1**. Esto da como resultado la pérdida del prosencéfalo ventral y la ausencia completa de la bolsa de Rathke.

A. Proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y factores de crecimiento fibroblástico (FGF).

- **BMP4:** las *proteínas morfogenéticas óseas* (**BMP**) (moléculas de señal) transducen una cascada de activación intracelular. **BMP4** es la molécula de señalización más temprana que se expresa en el infundíbulo, cuando la bolsa de Rathke es visible por primera vez (Davis y col., 2007). La **BMP4** es secretada para la inducción y el mantenimiento de la bolsa de Rathke. La expresión de **Isl1** en la pituitaria anterior está regulada por la

señalización de **BMP4** del diencéfalo ventral. La regulación de la expresión de *Isl1* podría ser responsable del mantenimiento y los efectos de supervivencia de **BMP4** en la población progenitora de la bolsa de Rathke.

Las malformaciones oculares del desarrollo, incluida la *anoftalmia-microftalmia* (MA), son trastornos heterogéneos con herencia frecuente esporádica o no mendeliana. Las deleciones intersticiales recurrentes de 14q22-q23 se han asociado con AM, a veces con poli/sindactilia e hipopituitarismo. Se identificaron otro caso de AM con anomalías hipofisarias asociadas. Se analizó el gen **BMP4** y se identificó una mutación c.226del2, p.S76fs104X que segregaba con AM, distrofia retiniana, miopía, anomalías cerebrales y polidactilia. Utilizando la hibridación *in situ* en embriones humanos, se demostró la expresión de **BMP4** en la vesícula óptica, la retina y el cristalino en desarrollo, la *región pituitaria* y poli/sindactilia. Se propuso que **BMP4** es un gen principal para AM y/o distrofia retiniana y anomalías cerebrales y puede ser un gen candidato para miopía y poli/sindactilia. Se sugiere una interacción entre **BMP4** y **Shh** entre las dos vías en los seres humanos (Bakrania y col., 2008).

La señalización de **BMP** es fundamental para el desarrollo y el patrón de la pituitaria del ratón desde la inducción inicial de la bolsa de Rathke hasta la especificación celular en el lóbulo anterior. Se examinó la regulación de la señalización de **BMP** durante el desarrollo pituitario mediante el análisis de embriones nulos para **nogina**, un **antagonista de BMP2/4**.

Nogina se expresa en el diencéfalo ventral durante la inducción de la bolsa de Rathke, en la placa del cartílago subyacente durante la especificación celular y en la glándula pituitaria anterior adulta. Los embriones nulos de **Nogina** tienen un fenotipo hipofisario variable, que varía desde una bolsa de Rathke desplazada rostralmente hasta la inducción de tejido hipofisario secundario. El patrón en el diencéfalo ventral está alterado y la actividad de **BMP4** se expande dando como resultado la represión del **FGF10** y un cambio rostral en el límite entre los dominios de expresión de **BMP4** y **Shh**. Se demostró la importancia de atenuar la actividad de la señalización de **BMP** durante la inducción hipofisaria para mantener el equilibrio adecuado de los factores de señalización necesarios para la organogénesis hipofisaria (Davis y Camper, 2007).

La actividad prolongada de las **BMP** inhibe la diferenciación terminal. En la **fig. 1.19** se muestra el fenotipo de la glándula pituitaria en embriones transgénicos α GSU-BMP4 en e17.0 (Treier y col., 2001).

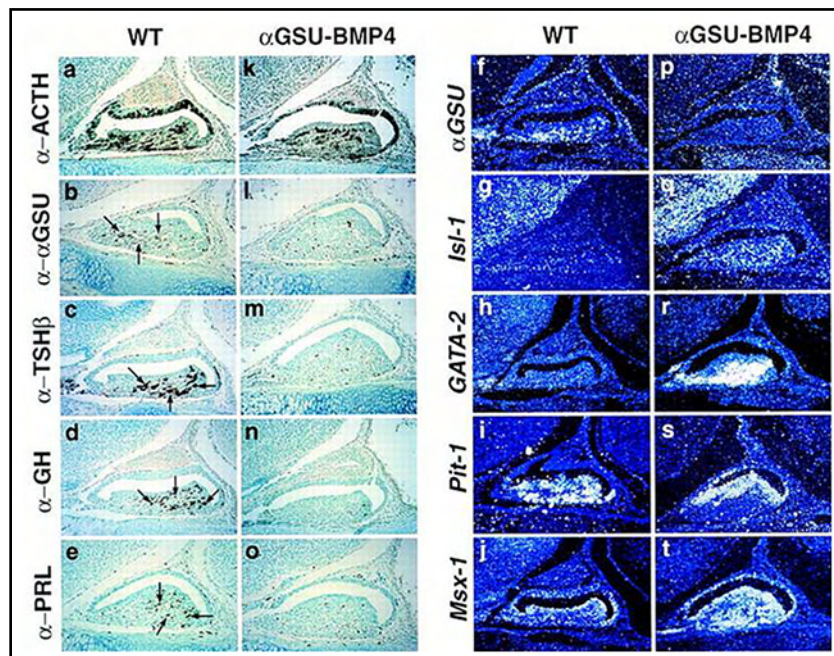


Fig. 1.19 Aspecto fenotípico de la glándula pituitaria en embriones transgénicos α GSU-BMP4 en e17.0 (Treier y col., 2001).

Se muestran las hipófisis de un embrión transgénico e17 (k-t) y su compañero de camada de tipo salvaje (a-j). Se muestran la IHQ para las hormonas **ACTH** (a, k), **α GSU** (b, l), **TSH β** (c, m), **GH** (d, n) y **PRL** (e, o). Las flechas indican células positivas para las hormonas en el ratón de tipo salvaje. El análisis *in situ* se realizó con los siguientes marcadores: **α GSU** (f, p), **Isl-1** (g, q), **GATA-2** (h, r), **Pit-1** (i, s) y **Msx-1** (j, t).

La **BMP2** se expresa primero en el *mesénquima ventral* adyacente a la bolsa de Rathke a 10.5 dpc junto con **BMP7**, pero luego gradualmente también se encuentra a lo largo de la bolsa, primero ventral y luego dorsal (Davis y Camper, 2007). *In vitro*, **BMP2/4/7** son capaces de imitar la influencia del mesénquima ventral en los explantes de la bolsa al inducir la expresión de **Isl1** y favorecer un linaje de células tirotropas ventrales. La presencia de varios inhibidores de **BMP**: **cordina**, **nogina**, **Nbl1** y **Fstl1**, dentro del infundíbulo, la hipófisis y el mesénquima circundante, pueden modular la señalización de **BMP** y **FGF**. Las vías de transducción integran y convergen estas señales con un conjunto de factores de transcripción que son críticos para la especificación del destino celular y el desafío será identificar cuáles son, cómo se controlan en la secuencia temporal y su activación en las vías de diferenciación específicas (Zhang y col., 2001).

En la **fig. 1.20** se presenta la expresión hipofisaria de **BMPs** y antagonistas **BMP**. **BMP2/4** que se compararon con un panel de antagonistas de **Bmp** que podrían regular su actividad. Se halló que **Bmp2** se expresa a lo largo de la bolsa de Rathke y no solo en el mesénquima ventral a la bolsa de Rathke (Ericson et al., 1998 ; Treier et al., 1998). **BMP4** continúa en el infundíbulo y los 3 antagonistas, **Fst/1**, **Nbl1** (**Dan**) y **nogina** muestran patrones de expresión que implican un posible papel de estas proteínas durante el desarrollo pituitario. **Nbl1** comienza su expresión en el mesénquima caudal a la bolsa de Rathke, aumenta en intensidad y se expande para abarcar todo el mesénquima que rodea la hipófisis. **Fst/1** comienza su expresión en el infundíbulo y también se expresa en el mesénquima que rodea la hipófisis. Se manifiesta en el infundíbulo y en el lóbulo intermedio (Davis y col., 2007)

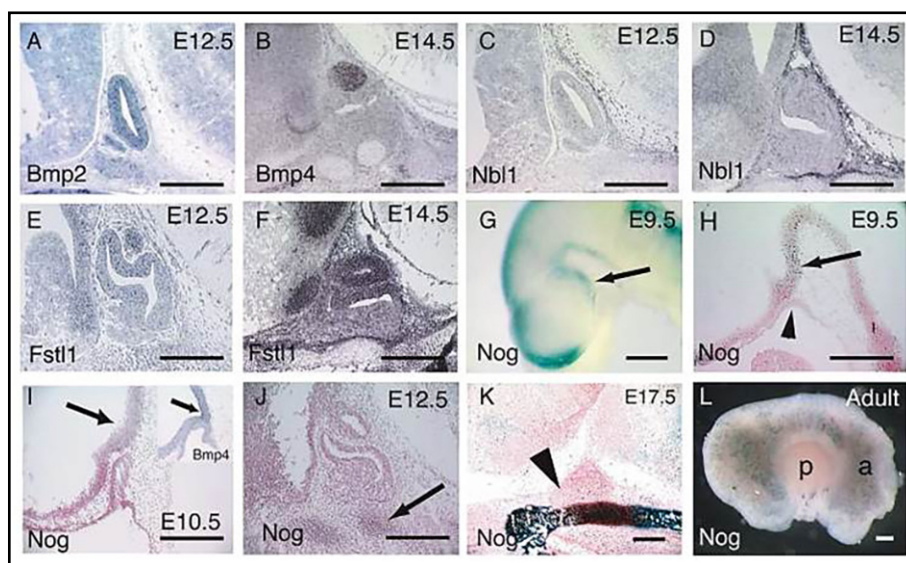


Fig. 1.20 Expresión hipofisaria de BMPs y antagonistas BMP (Davis y col., 2007)

(A-F) Hibridación *in situ* de ARN en embriones de tipo salvaje. (A). **BMP2** en e12.5. (B). **BMP4** en e14.5 (C). **Nbl1** en E12.5 (D). **Nbl1** en e14.5 (E). **Fstl1** en e12.5 (F). **Fstl1** en e14.5 (G-L). Embriones **Nog**^{+/-} teñidos con X-gal para la actividad β -galactosidasa. (G). Embrión e9.5 donde se extrajeron los arcos faríngeos para visualizar el *ectodermo oral*. La flecha indica expresión en el **diencéfalo ventral**. (H-J). Secciones medio sagitales contrateñidas con rojo neural. (H). Embrión e9.5 donde la flecha indica expresión en el diencéfalo ventral, mientras que la punta de flecha indica la **bolsa de Rathke**, que carece de expresión. (I). Embrión e10.5 con expresión de **Nog** en el *diencéfalo ventral*. El recuadro muestra expresión de **BMP4** en la misma región del diencéfalo ventral. (J). Embrión e12.5 donde la flecha indica expresión en la *placa de cartilago* en formación. (K). Embrión e17.5 en el que se observa una expresión fuerte en la placa del cartilago, pero sin expresión en la pituitaria anterior (punta de flecha). (L). Pituitaria de un ratón adulto. Se observa una expresión intensa en el lóbulo anterior (a) en comparación con la ausencia de expresión en el lóbulo posterior (p).

B. FGF: Tres de los miembros: **FGF-8/10/18** comienzan a expresarse en el infundíbulo en 9.5 dpc, 24 h después de la aparición de **BMP4** (Treier y col., 1998 y 2001) Transcripciones de **FGFr2**, que codifican un receptor de **FGF**, se detectaron en la bolsa de Rathke adyacente al dominio de expresión de **FGF-8** (Takuma y col., 1998). El tratamiento de explantes de bolsa por **FGF-8** indujo la expresión de **Lhx3**, mientras que la expresión de **Isl1** se restringió lejos de la fuente del factor. La expresión de **Lhx3** parece ser independiente de los **FGF** (Davis y Camper, 2007). Por el contrario, el tratamiento con un antagonista específico del receptor de **FGF**, que imita su pérdida e induce la regulación a la baja de **Lhx-3** y la diferenciación ectópica de tirotropas y corticotropas en la región dorsal (Norlin y col., 2000). Más tarde, **FGF-8** puede restringir la diferenciación de corticotropas a una zona intermedia de la bolsa. Además, la expresión ectópica temprana de **FGF-8** dentro de la bolsa de Rathke da como resultado una dismorfogénesis severa con una expansión de las células corticotropas y melanotropas que expresan **POMC** (Treier y col., 2001). La diferenciación terminal requiere la salida del ciclo celular y la regulación negativa de la señalización de **FGF-8**.

C. Sonic Hedgehog: hay 3 proteínas de erizo de mamíferos: Sonic Hedgehog (**Shh**), Indian Hedgehog (**Ihh**) y Desert Hedgehog (**Dhh**), que pueden actuar como morfógenos durante el desarrollo provocando diferentes respuestas. Los ligandos de **Shh** activan el receptor **Patched**, liberando el coreceptor y activando factores de transcripción de la familia **Gli**. El **Shh** se expresa en el diencéfalo ventral y en el ectodermo oral y se excluye de la bolsa de Rathke tan pronto como aparece (Treier y col., 2001; Hui y col., 1994). Por ello, la glándula en desarrollo es competente para recibir y responder a la señalización **Shh**. El desarrollo de la glándula pituitaria sirve como un excelente sistema modelo para estudiar la aparición de distintos tipos de células a partir de un primordio común de los mamíferos. Se investigó el rol del **Shh** en el crecimiento y diferenciación de la glándula pituitaria mediante estudios de pérdida y ganancia de función en ratones transgénicos. **Shh** se expresa en todo el diencéfalo ventral y el ectodermo oral, pero se excluye de la bolsa de Rathke tan pronto como aparece (Treier y col., 2001; Hui y col., 1994). Por ello, la glándula en desarrollo es competente para recibir y responder a la señalización **Shh**. El **Shh** que actúa en el límite dentro del ectodermo oral, puede ejercer un papel en la diferenciación de los tipos de células ventrales (gonadotropas y tirotropas) al inducir la expresión de **BMP2** en la bolsa de Rathke, que posteriormente regula la expresión de la transcripción ventral (Treier y col., 2001).

D. Señalización de Wnt y β -catenina (figs. 1.21-1.23).

- **Wnt:** durante el desarrollo hipofisario, se requieren vías de señalización **Wnt** tanto dentro de la bolsa como en el diencéfalo ventral. **Wnt5a** es el único miembro de esta familia de genes que se expresa en el diencéfalo ventral (Treier y col., 1998).

- **β -catenina:** clave en la señalización de **Wnt** canónica. Su pérdida en el linaje causa apoptosis de las células de la cresta neural que migran, lo que lleva a malformaciones cefálicas. Se hicieron experimentos de rastreo de linaje utilizando 2 líneas cre en ratón, específicas de la cresta neural, **Wnt1-cre** y **P0-cre** y se determinó que el mesénquima de la cabeza rostral a la glándula pituitaria deriva de la cresta neural. Para evaluar el papel de la cresta neural en el desarrollo de la pituitaria, se la ablacionó usando **Wnt1-cre** para eliminar **Ctnnb1** (**β -catenina**), que es necesaria para el desarrollo de la cresta neural. El **Wnt1-cre** está activo en el ectodermo neural, en especial en el mesencéfalo, pero también en el diencéfalo posterior. La pérdida de β -catenina en este dominio provoca un desplazamiento rostral en el diencéfalo ventral, incluido el organizador hipofisario, lo que da lugar a *dismorfología hipofisaria*. Los embriones deficientes en la cresta neural tienen vasculatura hipofisaria anormalmente dilatada debido a una pérdida de pericitos derivados de la cresta neural (Davis y col., 2016).

Concluyendo, la β -catenina en el dominio de expresión de **Wnt1**, incluida la cresta neural, juega un rol crítico en la regulación del crecimiento, desarrollo y vascularización de la glándula pituitaria (Shannon y col., 2016; Davis y col., 2016).

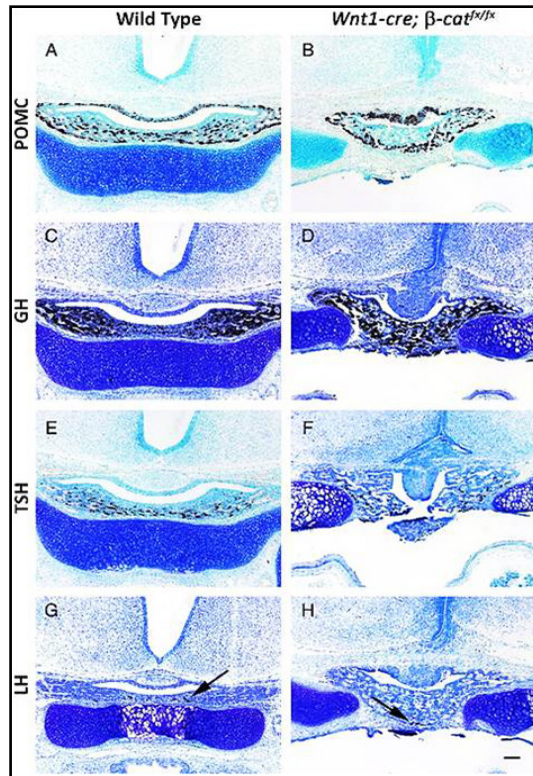


Fig. 1.21 Wnt1: inmunotinción para hormonas (Davis y col., 2016). Inmunotinción para hormonas hipofisarias, en e17.5, contrateñido con verde de metilo (azul). A-B: **POMC**. C-D: **GH**. E-F: **TSH**. G-H: **LH**. Las flechas indican células positivas seleccionadas. A, C, E, G: tipo salvaje. B, D, F, H: **Wnt1-cre; β-cat fx/fx**.

Figura 1.22: muestra **Wnt1-cre; β-cat fx/fx** en **FGF10**, **BMP4** y **SIX6** (Davis y col., 2016).

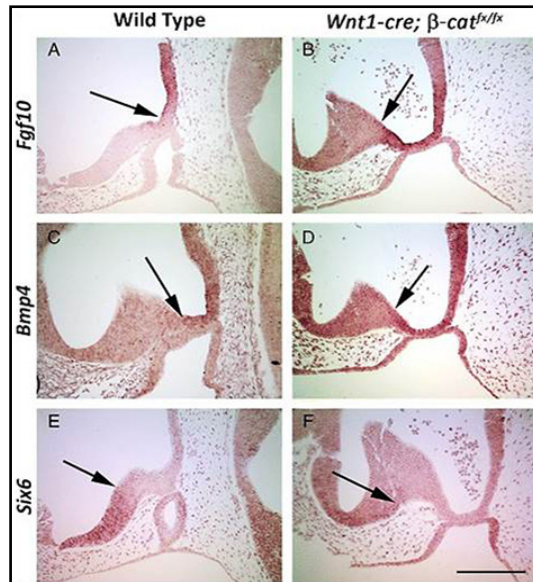


Fig. 1.22 Wnt1-cre; β-cat fx/fx en **FGF10**, **BMP4** y **SIX6** (Davis y col., 2016). **A-B: FGF10**. **C-D: BMP4**. **E-F: Six6**. **A, C, E:** tipo salvaje. **B, D, F: Wnt1-cre; β-cat fx/fx**. Hibridación *in situ* de ARN en secciones sagitales de e10.5 (marrón). Las flechas representan el límite de expresión entre el dominio de expresión de Bmp4 y Fgf10 y el dominio de expresión de Six6 adyacente en el diencéfalo ventral. **A-B: Fgf10**. **C-D: Bmp4**. **E-F: Six6**. **A-C-E:** tipo salvaje. **B-D-F: Wnt1-cre; β-cat fx/fx**.

En la **figura 1.23** se ve la marcación de β **catenina** (Davis y col., 2016).

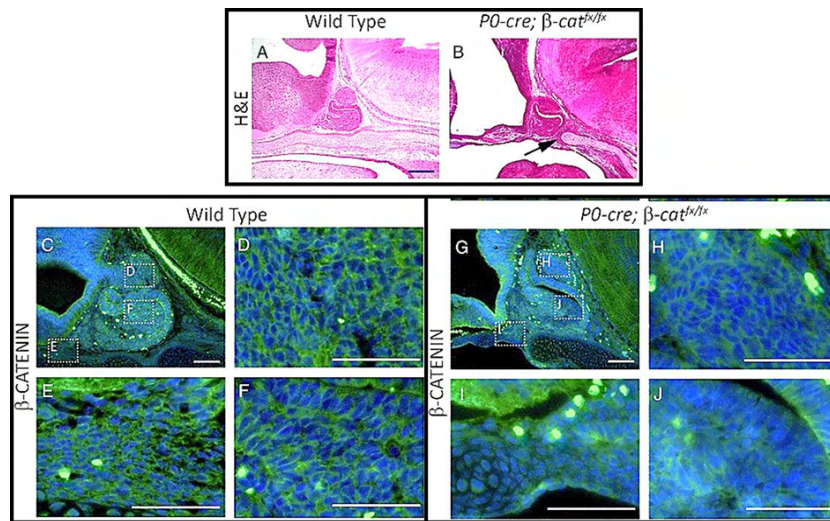


Fig. 1.23 β **catenina** (Davis y col., 2016).

A-B: Tinción con H-E, cortes sagitales e14.5. A: tipo salvaje. B: **P0-cre; β -cat *fx/fx***, la flecha indica el final de la placa de cartílago que formará el hueso esfenoides. **C-J:** inmunotinción para β -**catenina** (verde) e14.5 secciones sagitales, contrastados con DAPI (azul). **C-F:** tipo salvaje. Las regiones en caja en **C** se magnifican en **D-E-F-D**: región que resalta el diencéfalo ventral. **E:** región que resalta el mesénquima derivado de la cresta neural. **F:** región que resalta el lóbulo anterior pituitario. **G-J:** **P0-cre; β -cat *fx/fx***, las regiones encuadradas en **G** se amplían en H-I-J-H: región destacando el diencéfalo ventral. I: región que destaca el mesénquima derivado de la cresta neural. J: región destacando el lóbulo anterior pituitario.

E. Sox-2/Sox-3: se expresan en todo el SNC con niveles de expresión altos en el diencéfalo ventral, incluidos infundíbulo e hipotálamo presunto (Wood y Episkopou, 1999). **Sox-2** también se expresa en las bifurcaciones adicionales en la bolsa. La similitud en las anomalías morfológicas de la bolsa de Rathke entre los mutantes **Sox-3** y de la vía **Wnt** sugiere su interacción durante la organogénesis pituitaria.

1.7 Factores del ectodermo oral

A. Pit-1: aparece en la bolsa de Rathke y permite la diferenciación de tres tipos celulares pituitarios: *somatotropas*, *lactotropas* y *tirotropas*. Originalmente, fue identificado como el factor controlador de la expresión de los genes de GH y PRL. Se requiere unión con **Pit-1** para la expresión del promotor proximal del gen de GH en las somatotropas. Además, el **Pit-1** responde a cascadas de señales y colabora con otros factores para la expresión de múltiples genes. El linaje tirotrópico puede ser **Pit-1** independiente o dependiente. **Pitx-1/2** se forman en el ectodermo oral y la bolsa de Rathke. Los factores **Pitx** están involucrados en la activación del promotor de PRL y en la identificación del **Pitx-2** que sería la base para estudiar la expresión de PRL. El **Pitx-1** actúa mediando al **Pit-1** y al gen promotor de la POMC. Su alteración lleva a una menor expresión en la diferenciación de los marcadores de gonadotropas y tirotropas. **Pitx-2:** es un regulador transcripcional que actúa en la diferenciación de los diferentes tipos celulares pituitarios.

B. Hesx-1: es uno de los primeros marcadores de la bolsa de Rathke, presente en la línea media de la cresta neural anterior, donde se desarrolla la placa neural hipofisaria, una región destinada a formar el prosencéfalo y el diencéfalo ventral (Thomas y col., 1995; Martínez-Barbera y col., 2000; Brickman y col., 2001; Carvalho y col., 2003; Sobrier y col., 2005; Kita y col., 2007; Raetzman y col., 2007; Gaston-Mausset y col., 2008; Sajedi y col., 2008)

1.8 Moléculas de señalización

A. Shh: es una molécula de señalización que se detecta entre el diencéfalo ventral y el ectodermo oral. Define límites entre bolsa de Rathke y ectodermo oral. Su expresión desaparece cuando nace la bolsa de Rathke. **Shh** y **FGF-8/10** regularían la expresión de **Plim** y **Lhx-3** en la formación inicial de la glándula pituitaria e inducen la diferenciación de las líneas pituitarias ventrales con expresión de **BMP-2** en la bolsa de Rathke, luego regulada por **GATA-2** (Treier y col., 2001). Se requiere **Shh** para especificar la identidad del progenitor de la bolsa de Rathke de **LHX3⁺/LHX4⁺**. Sin embargo, los estudios *in vivo* no han logrado revelar tal función, apoyando en cambio un papel crucial para **Shh** en la promoción de la proliferación de estos progenitores de la bolsa de Rathke y para la diferenciación de tipos de células pituitarias. Se demostró que la eliminación condicional de **Shh** en el hipotálamo anterior da como resultado un fenotipo penetrante caracterizado por una detención completa del desarrollo de la bolsa de Rathke, con falta de expresión de **Lhx3/Lhx4**. Por el contrario, la sobreactivación de la **vía Shh** por la delección condicional de **Ptch1** en los progenitores de la bolsa de Rathke conduce a una hiperplasia grave y al agrandamiento del compartimiento de células madre **Sox2⁺** al final de la gestación (Carreño y col., 2017).

B. BMP-4: es una molécula de señalización detectada en la fase inicial del desarrollo pituitario a nivel del neuroepitelio diencefálico ventral (infundíbulo) que induce la formación de la bolsa rudimentaria (Jones y col. 1991; Ericsson y col., 1998; Davis y col., 2007).

C. BMP-2: es una molécula de señalización expresada dentro de la bolsa de Rathke-mesénquima ventral que permite la diferenciación temprana de los tipos celulares pituitarios. El gradiente **BMP-2** (ventro-dorsal) se opone al gradiente (dorso-ventral) de **FGF-8** del diencéfalo ventral y de la cordina.

D. FGF-8: se localiza en el infundíbulo e induce la formación de la bolsa definitiva y de las células pituitarias precursoras. Las células progenitoras proliferan y se diferencian debido a restricciones espacio-temporales en el **FGF** y por señales neurales (infundíbulo) y mesenquimáticas mediadas por la **BMP**. El infundíbulo aporta **BMP-4** y **FGF-8** y el mesénquima entrega **BMP-2** y **7**. El **FGF** promueve la proliferación celular y el **BMP** controla la selección inicial de las tirotropas y las corticotropas (Norlin y col., 2000).

E. GATA-2: la expresión dorsal de **GATA-2** es suficiente para convertir todas las líneas **Pit-1** en *gonadotropas*. La familia **GATA** es esencial en los procesos de diferenciación celular y en la expresión de las gonadotropinas.

GATA-2 y **4** aumentan significativamente la estimulación de la *hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)* mediada por el gen promotor del *polipéptido activador de la adenilato ciclasa pituitario (PACAP)* en la línea celular gonadotropa **LH β** y **L β T2**. Esto prueba la interacción entre **GnRH** y **GATA** en la expresión de **PACAP-1** para regular la función de la población gonadotropa. El **Pit-1** colabora con **GATA-2** para estimular la transcripción del gen de la β TSH. Los dos tipos celulares ventrales surgen de un origen ancestral común y expresan una serie de factores inducidos por el gradiente ventro-dorsal de **BMP-2**. Hay **Pit-1** en las tirotropas y está ausente en las gonadotropas. La expresión ventral de **Pit-1** es suficiente para convertir las gonadotropas en tirotropas *in vivo*. **Pit-1** y **GATA-2** se coexpresan únicamente en las células tirotropas y se requieren múltiples dominios de **Pit-1** para la plena sinergia con **GATA-2**. Los 4 tipos de células pituitarias ventrales estuvieron mediados por interacciones recíprocas de **Pit-1** y **GATA-2** (Dasen y col. 1999; Gordon y col., 2002).

1.9 Factores especificadores del linaje pituitario

Se demostró que las células madre son capaces de diferenciarse en todos los tipos de células endocrinas durante el desarrollo neonatal de la pituitaria y contribuyen a la regeneración de la glándula en el adulto.

A. Prop1: es un miembro de la familia pareada de factores de transcripción de homeodominio. Se expresa en la **bolsa de Rathke** y activa el **Pit-1**. **Prop1** se detecta débilmente en el nicho de células progenitoras de la bolsa (e11.5), en un momento en el que **Sox2** se expresa con fuerza. Para 13.5 dpc la mayoría de los progenitores luminales son positivos tanto para **Prop1** como para **Sox2**. A partir del desarrollo embrionario tardío y posnatal temprano, las células positivas para **Prop1** se excluyen del lóbulo intermedio y quedan restringidas a la zona marginal y al parénquima del lóbulo anterior. Su expresión alcanza *un* pico a los 12 dpc en toda la bolsa y luego se reduce, manteniéndose hasta los 15.5 dpc en el área periluminal donde se encuentran los progenitores (Olson y co., 2003).

En el adulto, el **Prop1** se mantiene a nivel bajo en la zona marginal. El cambio de expresión del represor **Hesx-1** al activador **Prop-1** es un paso importante durante el desarrollo de la glándula porque es necesario para la aparición de los linajes **Pou1F1 (Pit1: GH, PRL y TSH)** y gonadotropas. Se sabe que **Prop1** está involucrado en la activación de **Pit-1** (Gage y col., 1996; Andersen y col., 1995). La sobreexpresión de **Prop1** resulta en un retraso en la expresión de **FSH β** que conduce a un retraso en la pubertad y también a un mayor riesgo de adenomas hipofisarios. Por ello, la importancia de una correcta regulación de la expresión de **Prop1** (Cushman y col., 2001; Vesper y col., 2006). En los seres humanos, *las* mutaciones de **Prop1** son la causa más común de hipopituitarismo. Las células que expresan **Prop1** son capaces de diferenciarse en todos los tipos de células del lóbulo anterior. Es un marcador y regulador genuino de la población madre y es requerido para la proliferación y determinación de 4 de los tipos celulares del área ventro-intermedia (Wu y col., 1998; Raetzman y col., 2002; Paracchini y col., 2003; Ward y col., 2009; Himes, Raetzman, 2009; Angotzi y col., 2011; Yako y col., 2013; Davis y col. 2016).

La señalización del **ácido retinoico** dependiente de **Prop1** regula la morfogénesis hipofisaria del desarrollo y la expresión hormonal (Cheung y Camper SA, 2020).

En la **fig. 1.24** se ve la señalización del ácido retinoico (**RA**) con otras vías dependientes del **PROP1** (Pérez Millán y col., 2016).

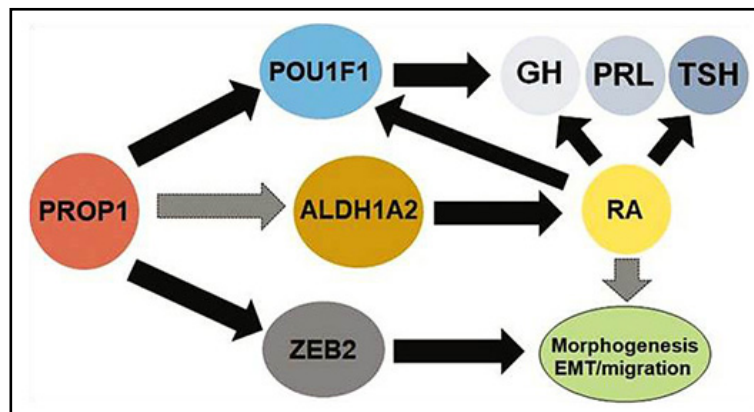


Fig. 1.24 PROP1 y ácido retinoico (RA) (Pérez Millán y col., 2016).

Esquema que integra la señalización del ácido retinoico (**RA**) con otras vías dependientes del **PROP1**. Se requiere **PROP1** para la expresión adecuada de **Aldh1a2** y la señalización de **RA** durante el desarrollo embrionario hipofisario. La señalización de **RA** es necesaria para la expresión de marcadores de linaje y hormonas pituitarias, en especial para la **TSH**, junto con otros mecanismos como la expresión de hormonas reguladas por **Pou1f1**. La señalización de la **RA** también regula la morfogénesis pituitaria.

Fig. 1.25: *se ve* PROP1 regulando la expresión de Aldh1a2 (Cheungy y Camper, 2020).

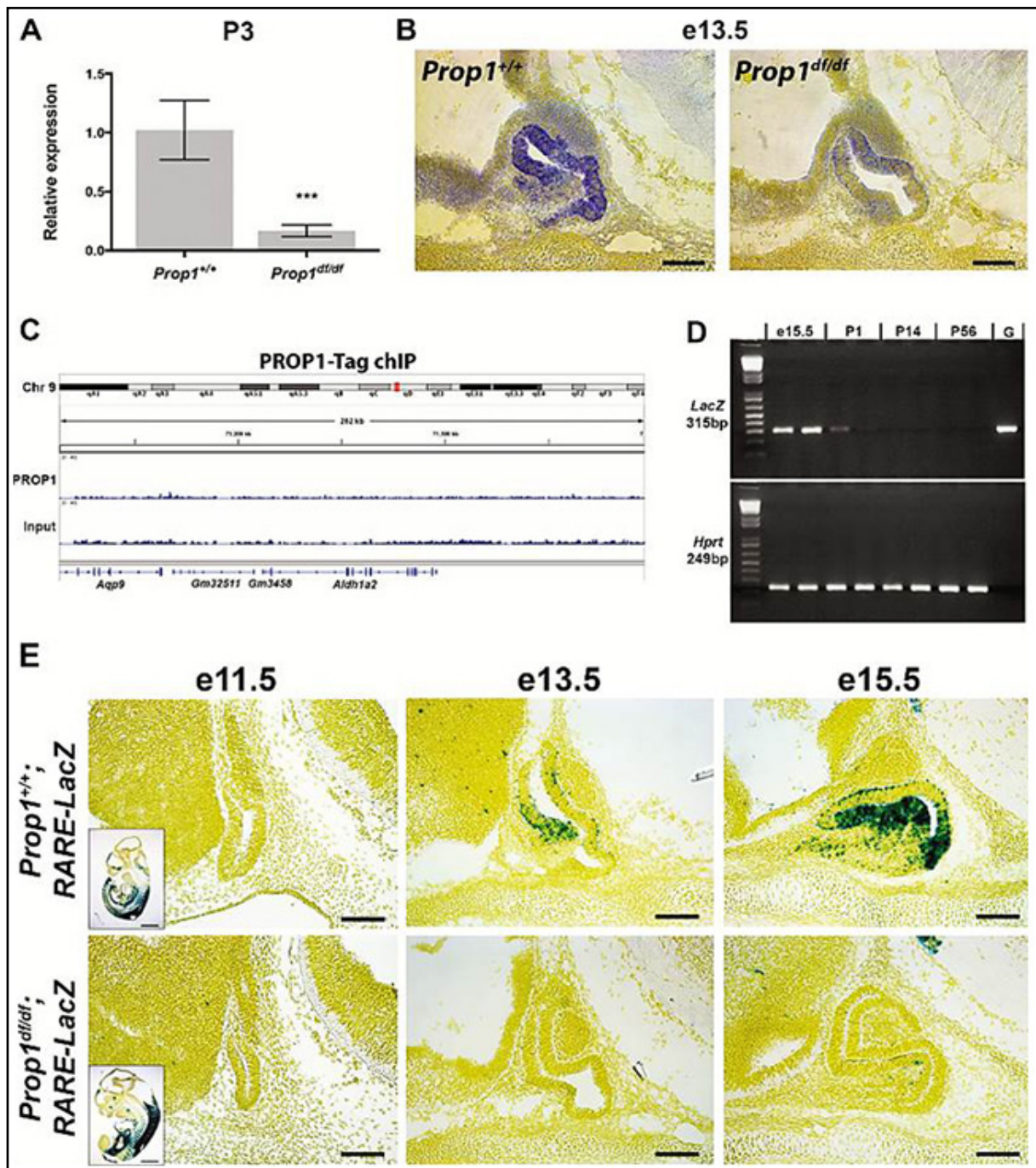


Fig. 1.25 *Prop-1* regula *Aldh1a2* (Cheungy y Camper, 2020).

Prop-1 regula la expresión pituitaria de **Aldh1a2** y se necesita para la señalización adecuada del **RA** durante el desarrollo hipofisario. **a.** La expresión de **Aldh1a2** se reduce en ratones **Prop1 df/df** según se detecta mediante reacción en cadena de la polimerasa. **b.** La expresión de **Aldh1a2** detectada por hibridación *in situ* se reduce en e13.5 en la pituitaria en desarrollo de mutantes de **Prop1**. **c.** La inmunoprecipitación de cromatina utilizando **Prop-1** marcado en células GHFT1 no encontró unión directa en ninguna dirección del ratón **Aldh1a2**. **d.** La PCR con transcriptasa inversa para la transcripción de **LacZ** en glándulas pituitarias de ratones **RARE-LacZ** mostró una expresión de **LacZ más fuerte (es decir, actividad de señalización de RA)** durante el desarrollo de la pituitaria. **e.** Control de ADN genómico: la señalización de **RA**, según lo informado por la actividad transgénica **RARE-LacZ**, está activa entre e13.5-e15.5 en la pituitaria normal. La actividad de señalización de **RA** se pierde en las glándulas pituitarias **mutantes Prop1** entre e13.5-e15.5.

Las mutaciones en **Prop1** son la causa más común de *hipopituitarismo* en humanos. Para dilucidar la completa red reguladora de genes dependiente de **Prop1**, se hizo un análisis de los efectos de la expresión génica en ratones mutantes, células madre aisladas de ratón y líneas celulares de ratón. Se determinó que **Prop1** es esencial para estimular las células madre a fin de que se sometan a un proceso de transición epitelial a mesenquimatoso necesario para la migración y diferenciación celular. El perfil genómico revela que **Prop1** se une a genes expresados en células epiteliales como **Claudin 23** y a genes inductores **Zeb2**, **Notch2** y **Gli2**. El **Prop1** es un componente transcripcional central en la diferenciación de células madre pituitarias (Pérez Millán y col., 2016).

La **fig. 1.26** muestra que el **Prop-1** regula la población de células madre **Sox2+** (Pérez Millán y col., 2016).

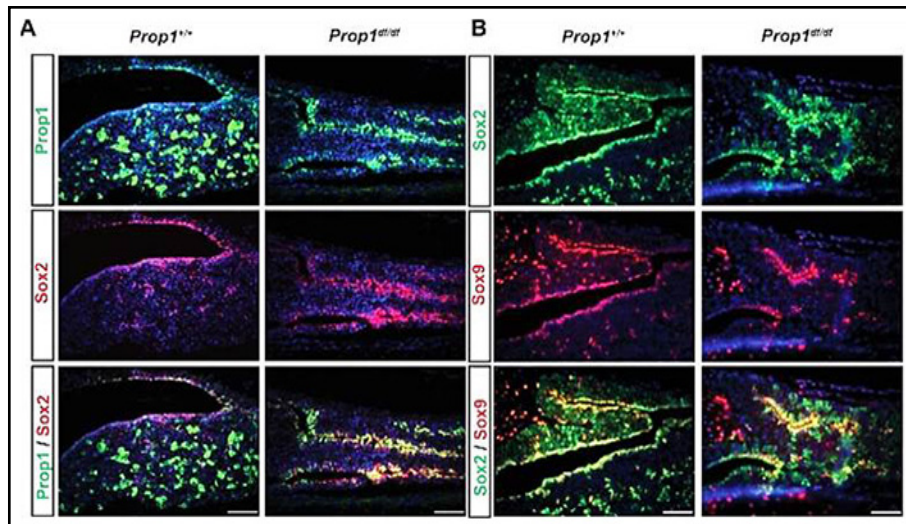


Fig. 1.26 Prop-1 regula células Sox-2 (Cheungy y Camper, 2020).
 Marcación doble IF: A. **Prop-1** y **Sox-2**. B. **Sox-2** y **Sox-9** en control de tipo salvaje y mutante **Prop1**.

La **fig. 1.27** presenta IF para **Prop-1** (Pérez Millán y col., 2016).

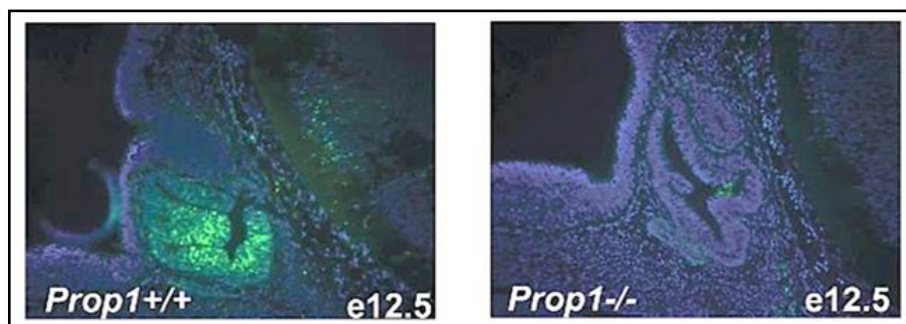


Fig. 1.27 IF para PROP1 (Pérez Millán y col., 2016).
 IF para **Prop-1** en cortes sagitales e12.5. Inmunotinción con anticuerpo específico anti- **Prop-1** en embriones de tipo salvaje y Prop1 -/- . Núcleos: se tiñeron azules con DAPI.

Prop-1: Diferenciación: de células madre a células diferenciadas (Pérez Millán y col., 2016) (fig. 1.28).

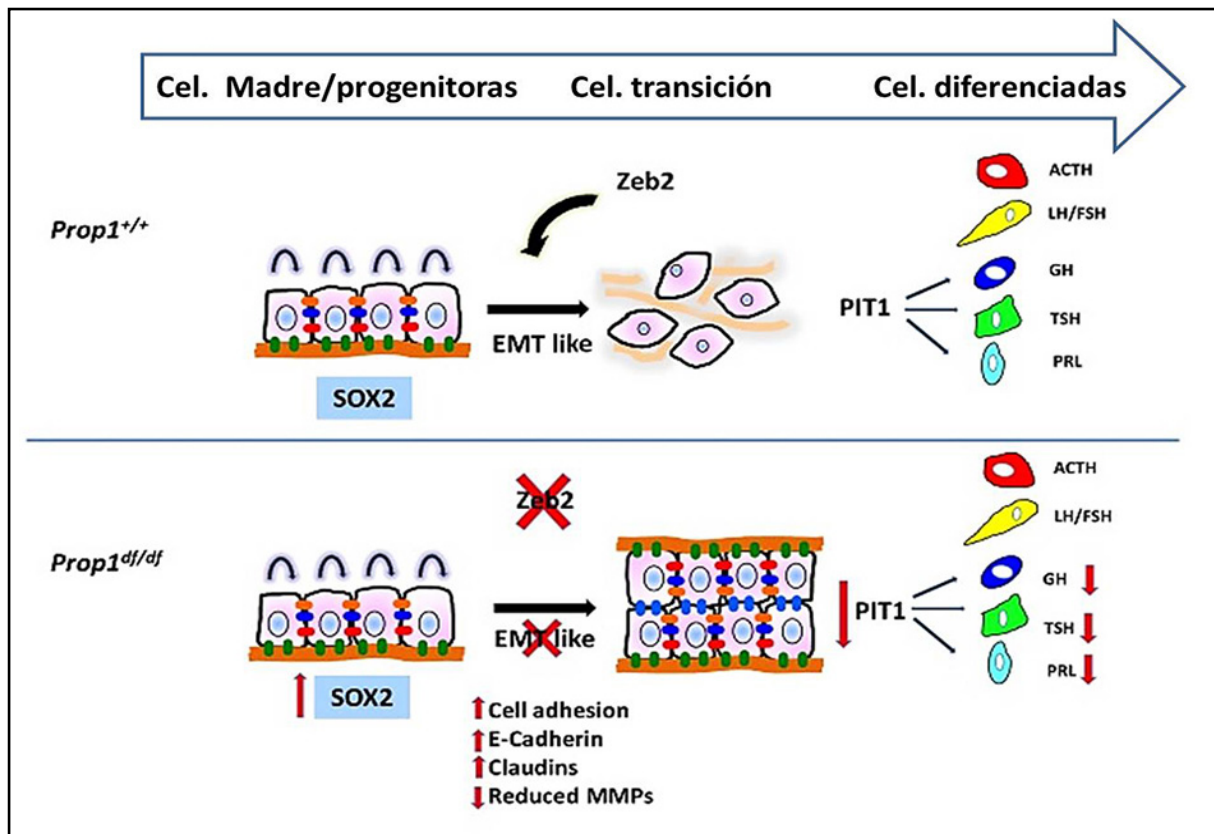


Fig. 1.28 Prop-1: de células madre a células diferenciadas (Pérez Millán y col., 2016).

Durante el desarrollo normal de la hipófisis, cuando las células madre hacen la transición hacia la diferenciación, salen del ciclo celular y expresan la **ciclina E**. Se sugiere que para que los progenitores se diferencien, deben pasar por un proceso similar a la EMT en el que la **E-caderina** se regula a la baja y las células pierden adhesión. En ausencia de **Prop-1**, la expresión de genes que pueden inducir EMT, como **Zeb2**, se reduce, lo que conduce a una mayor adhesión celular y una mayor expresión de proteínas de unión estrecha como las claudinas. Se requiere **Prop-1** para que los progenitores progresen a la etapa de transición marcada por la expresión de **ciclina E** y en ausencia de **Prop-1**, la expresión de **Sox-2** es elevada. El fracaso de las células progenitoras para avanzar a la etapa de transición conduce a una deficiencia de la hormona pituitaria y dismorfología.

Se estudiaron los requisitos de señalización en las tres fases secuenciales para la organogénesis *in vivo* y la acción de un gradiente en el límite ectodérmico. En la primera fase, la señal de **BMP4** del diencefalo ventral, que expresa **BMP4**, **Wnt5a** y **FGF8**, representa una señal neuroepitelial dorsal crítica para el compromiso del órgano pituitario. Después, una señal de **BMP2** emana de un centro organizador de la hipófisis ventral que se forma en el límite de una región del ectodermo oral, en la que la expresión de **Shh** se excluye selectivamente. Esta señal de **BMP2** junto con una señal de **FGF8** dorsal, parece crear gradientes de actividad opuestos que generarían patrones superpuestos de factores de transcripción, mientras que **Wnt4** es necesario para la expansión de fenotipos de células de la hipófisis ventral. En la tercera fase, se requiere una pérdida temporal específica de la señal **BMP2** para permitir la diferenciación terminal. La consecuencia de estos eventos es la determinación secuencial de cada tipo de célula endocrina (Treier y col., 1998).

Se comunicó la separación espacial y temporal de las *células proliferantes* y las *células diferenciadas* dentro de la pituitaria anterior en desarrollo, así como el control de la *proliferación celular* durante la *organogénesis*. Se identificó una población de precursores no cíclicos marcados por la expresión del inhibidor del ciclo celular **p57 (Kip2)** y la **ciclina E**. En ratones **p57 (Kip2^{-/-})**, la pi-

tuitaria en desarrollo es *hiperplásica* debido a la *acumulación de progenitores en proliferación*, mientras que la *sobreexpresión de p57 (Kip2)* conduce a *hipoplasia*. La salida del ciclo celular dependiendo de **p57 (Kip2)** no es necesaria para la diferenciación y, a la inversa, el bloqueo de la diferenciación celular no evita la salida del ciclo celular, sino que conduce a la acumulación de precursores **p57 (Kip2)+**. Tras la diferenciación, **p57 (Kip2)** se reemplaza por **p27 (Kip1)**. Las células diferenciadas en proliferación se detectan en las pituitarias **p27 (Kip1-/-)** pero no en las pituitarias tipo salvaje **p57 (Kip2-/-)**. Las células de las pituitarias **p57 (Kip2 -/-)** y **p27 (Kip1 -/-)** son proliferativas. La salida del ciclo celular progenitor está controlada por **p57 (Kip2)** seguido de **p27 (Kip1)** en células diferenciadas. Hay controles jerárquicos del ciclo celular independientes de la diferenciación (Bilodeau y col., 2009) (**figs. 1.29-1.31**).

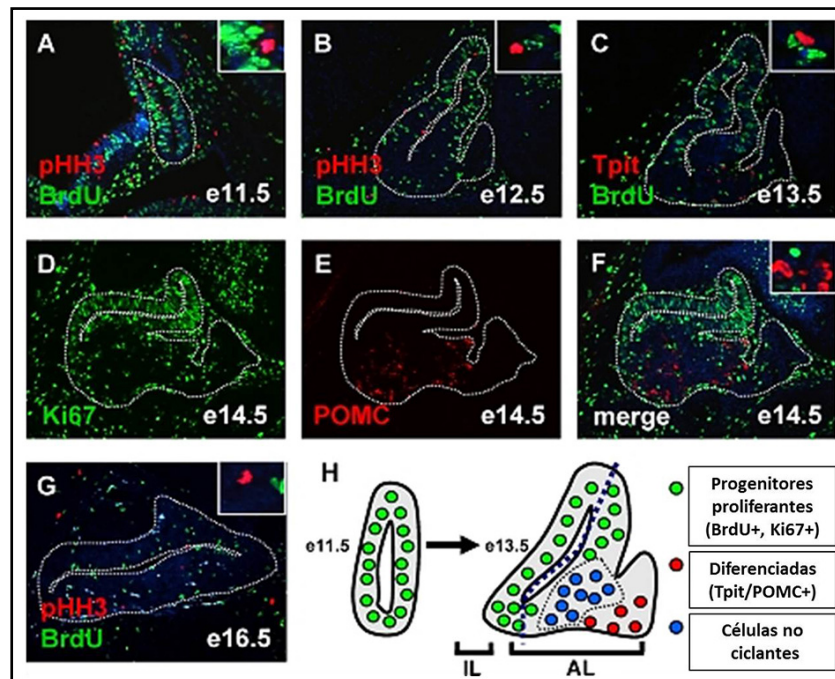


Fig. 1.29 Proliferación- diferenciación en el desarrollo hipofisario (Bilodeau y col., 2009).

Subpoblación de células hipofisarias indiferenciadas que no se reciclan (**A, B, G**). Los marcadores de fase S BrdU (verde) y fase M pHH3 (rojo) identifican **células en proliferación en diferentes etapas del desarrollo hipofisario. Los núcleos se tiñeron de azul con el colorante Hoechst 33258.** (**C**) Las primeras células corticotropas presentes en e13.5 se revelan mediante tinción de Tpit (rojo). La colocalización con BrdU (verde) revela patrones de expresión mutuamente excluyentes. (**D a F**) Las células proliferativas identificadas por la expresión de Ki67 (**D**) son distintas de las células positivas para POMC diferenciadas (**E y F**). (**H**) Representación de la organización espacial de las diferentes poblaciones de células pituitarias en e11.5 y e13.5. Los progenitores proliferantes (verde) se encuentran alrededor de la luz, mientras que las células diferenciadas (rojas) aparecen en el lado ventral del lóbulo anterior en desarrollo. Un grupo de células indiferenciadas no cíclicas (azul) está presente entre células proliferantes y diferenciadas

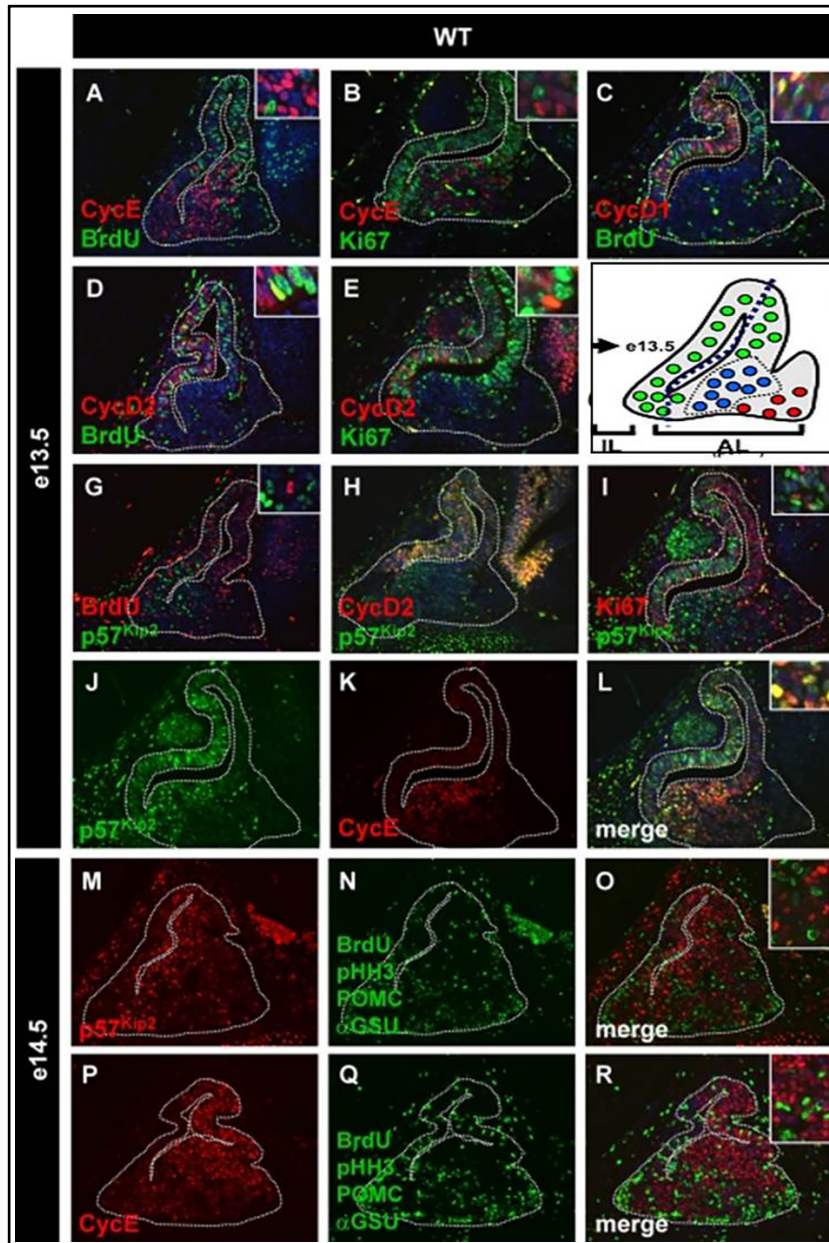


Fig. 1.30 Marcación de células diferenciadas y proliferantes (Bilodeau y col., 2009). **p57 Kip2** y **ciclina E** marcan células indiferenciadas que no ciclan en la pituitaria anterior. (A) Las células positivas para BrdU no están etiquetadas con ciclina E, una ciclina que se cree que está involucrada en la transición G 1 -S. (B) La **ciclina E** no co-etiqueta ninguna célula con **Ki67**, un marcador de células proliferativas. (C) La ciclina D1 y la ciclina D2 (D) se colocalizan con **BrdU** o **Ki67** (E), lo que sugiere que la expresión de la ciclina D se mantiene hasta el comienzo de la fase S. **p57 Kip2**: las células positivas son **BrdU** negativas (G) y en su mayoría **ciclina D2** (H) y **Ki67** (I) negativas. (J a L) Colocalización de **p57 Kip2** y **ciclina E** en células de la pituitaria anterior en desarrollo. (M a R) células positivas para **ciclina E** y **p57 Kip2** con colocalización de **p57 Kip2** (M) y **ciclina E** (P) y mezcla de marcadores de proliferación y diferenciación (N y Q). Las **células en proliferación**: tinción nuclear de BrdU y pHH3. **Células diferenciadas**: marcado citoplásmico de **POMC** y **αGSU** (O y R). **p57 Kip2**- y **células ciclina E+** no se co-etiquetan con ninguno de estos marcadores, lo que indica que estas células que no ciclan son indiferenciadas. (F) Esquema de las diferentes poblaciones de células que muestra precursores indiferenciados que no se ciclan localizados físicamente entre progenitores en proliferación y células diferenciadas. WT, tipo salvaje.

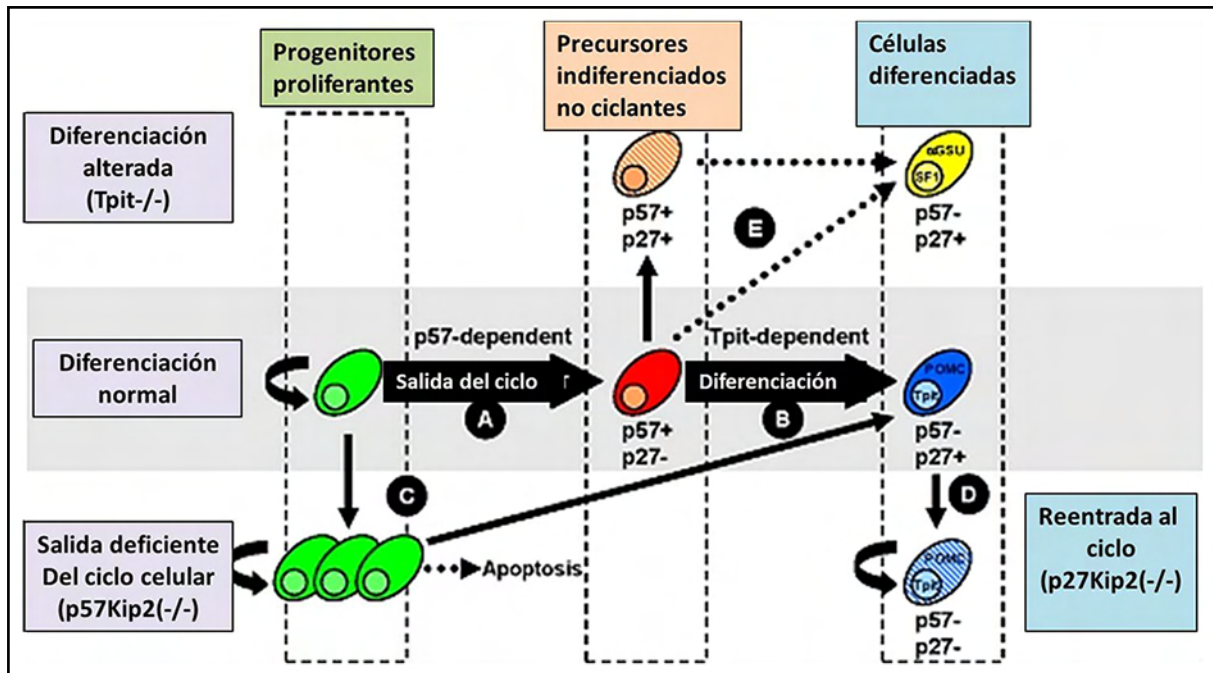


Fig. 1.31 Desacoplamiento de la proliferación y diferenciación durante el desarrollo hipofisario (Bilodeau y col., 2009).

(A) Los *progenitores proliferativos* (verde) salen del ciclo celular bajo el control de **p57 Kip2** para producir *precusores que no se ciclan* (azul). (B) Estas células transitorias apagan **p57 Kip2** y encienden **p27 Kip1** en paralelo con la diferenciación en varios linajes productores de hormonas.

Esta secuencia se caracterizó para el *linaje corticotropo* dependiente de **Tpit** (**POMC**) (rojo), que es el más temprano en alcanzar la diferenciación terminal en la pituitaria anterior. (C) En ausencia de **p57 Kip2**, los progenitores hipofisarios inicialmente crecen en exceso y luego experimentan una *apoptosis* extensa al final de la vida fetal. La ausencia de **p57 Kip2** no impide la expresión posterior de **p27 Kip1** o la diferenciación en varios linajes. La salida del ciclo celular dependiente de **p57 Kip2** de los progenitores parece estar controlada independientemente de la diferenciación celular.

(D) **p27 Kip1** aparece con la diferenciación y protege a las células diferenciadas de volver a entrar en el ciclo celular. (E) El bloqueo de la diferenciación celular observado en ratones **Tpit**^{-/-} conduce a la acumulación de precusores indiferenciados no ciclantes (naranja) que son **p57 Kip2**⁺ y **p27 Kip1**⁺. Una pequeña fracción de células del lóbulo intermedio de los ratones mutantes **Tpit**^{-/-} se diferencian, ya sea a través del cambio del destino celular en gonadotrofos (**αGSU** y **SF1**⁺) o, más raramente, en células **POMC**⁺. Las células que sí se diferencian desactivan la expresión de **p57 Kip2**, lo que sugiere que el proceso de diferenciación en sí mismo es responsable de su extinción.

B. Pit1 (Pou1f1): es un miembro de la familia de factores de transcripción de homeodominio de **POU** caracterizados por dos dominios de proteínas. **Pit1** se expresa tarde durante el desarrollo de la hipófisis, y se vuelve detectable a partir de 13,5 dpc en futuras somatotropas, lactotropas y tirotropas, alcanzando la máxima expresión en 16 dpc, persistiendo en éstas hasta la edad adulta (Bodner y col., 1988). Es necesario para la producción de GH, PRL y TSHβ, así como para la expresión de **GhrhR** (Rhodes y col., 1994; Andersen y col., 2001). Se demostró que **Pit1** es capaz de inhibir el factor de transcripción **GATA-2** para prevenir el destino de las gonadotropas, mientras que los 2 factores actúan en sinergia para promover el destino de las tirotropas (Dasen y col., 1999).

C. GATA-2: tiene funciones duales como factor de mantenimiento de células madre en algunos tejidos (Huang y col., 2008), pero también promueve la diferenciación en otros. GATA2 comienza a expresarse a 10.5 dpc en la bolsa de Rathke ventral, donde es inducida por BMP2 (Dasen y col., 1999) y marca gonadotropas y tirotropas. Se ha proporcionado más evidencia de la función de GATA-2 en la promoción del destino de gonadotropas y tirotropas mediante una inactivación específica de la proteína en células positivas para αGSU.

D. Tbx-19 (Tpit): es un miembro de la familia T-Box. Se expresa exclusivamente en la hipófisis en desarrollo, 12.5 dpc en células positivas para POMC, luego en corticotropas y melanotropas y se mantiene en la glándula adulta. Es capaz de activar directamente la expresión de *Pomc* en asociación con Pitx-1 (Lamolet y col., 2001). Las mutaciones en **Tbx-19** son la causa más común de deficiencia aislada de ACTH que se presenta en el período neonatal en humanos.

E. Sox-2: es uno de los primeros marcadores de la población madre pituitaria en desarrollo en la región determinante del sexo Y-box 2. Es un factor de transcripción homeótico. En humanos y ratones, la pérdida de **Sox-2** en la hipófisis da como resultado *hipopituitarismo*. Se expresa en los progenitores proliferantes a lo largo de la bolsa de Rathke (e11.5). En el desarrollo posnatal y en el adulto, la expresión de **Sox-2** disminuye y se restringe a las células de la zona marginal que rodean la hendidura. Durante la maduración posnatal temprana, se pueden encontrar grupos de células **Sox-2+** en el parénquima del lóbulo anterior. Se demostró que todos los tipos de células endocrinas derivan de una célula precursora que expresa **Sox-2**, lo que proporciona una evidencia clara que estas células son células madre. Durante el desarrollo embrionario temprano, la población progenitora expresa débilmente **Sox-9**, pero durante el desarrollo posnatal y en el adulto, la mayoría de las células son **Sox+** (Ambrosetti y col., 2000; Avilion y col., 2003; Kelbeman y col., 2008, Fauquier y col., 2008; Yoshida y col. 2009).

F. S100β: un subconjunto de células del lóbulo anterior que expresan la **proteína S100, polipéptido β, neuronales (S100β)** se han identificado como *células folículo-estelares*. Estas células no granulares, muestran largos procesos citoplasmáticos mantienen las redes celulares. Las células positivas para **S100β** no están presentes durante el desarrollo embrionario. Se ha demostrado que una subpoblación de folículo-estelares tiene la capacidad de formar colonias y de diferenciarse en células endocrinas.

G. Nestina: las células **nestina+** se hallaron en todas las etapas del desarrollo pituitario y transfirieron células de los sistemas **Prop-1** y **Pit-1**. (Yoshida y col., 2013).

Las células madre deben salir del ciclo celular y se diferencian en uno de los tipos de células endocrinas. El destino celular específico se ve facilitado por la expresión de factores de transcripción que promueven la especificación del linaje, dando las *células gonadotropas, tirotropas, somatotropas, corticotropas y lactotropas* en el lóbulo anterior y *melanotropas* del lóbulo intermedio. Las células precursoras de la hipófisis expresan muchos miembros de la vía de señalización **Notch** que desempeña múltiples funciones en el desarrollo de la hipófisis, influyendo en el número de precursores, el tamaño del órgano, la diferenciación celular y el destino celular. El factor **Hes1** es necesario para la especificación de las melanotropas y reprime el destino de una célula o lo dirige a un destino específico (Raetzman y col., 2007).

En la **fig. 1.32** se muestra la diferenciación final de las células hipofisarias.

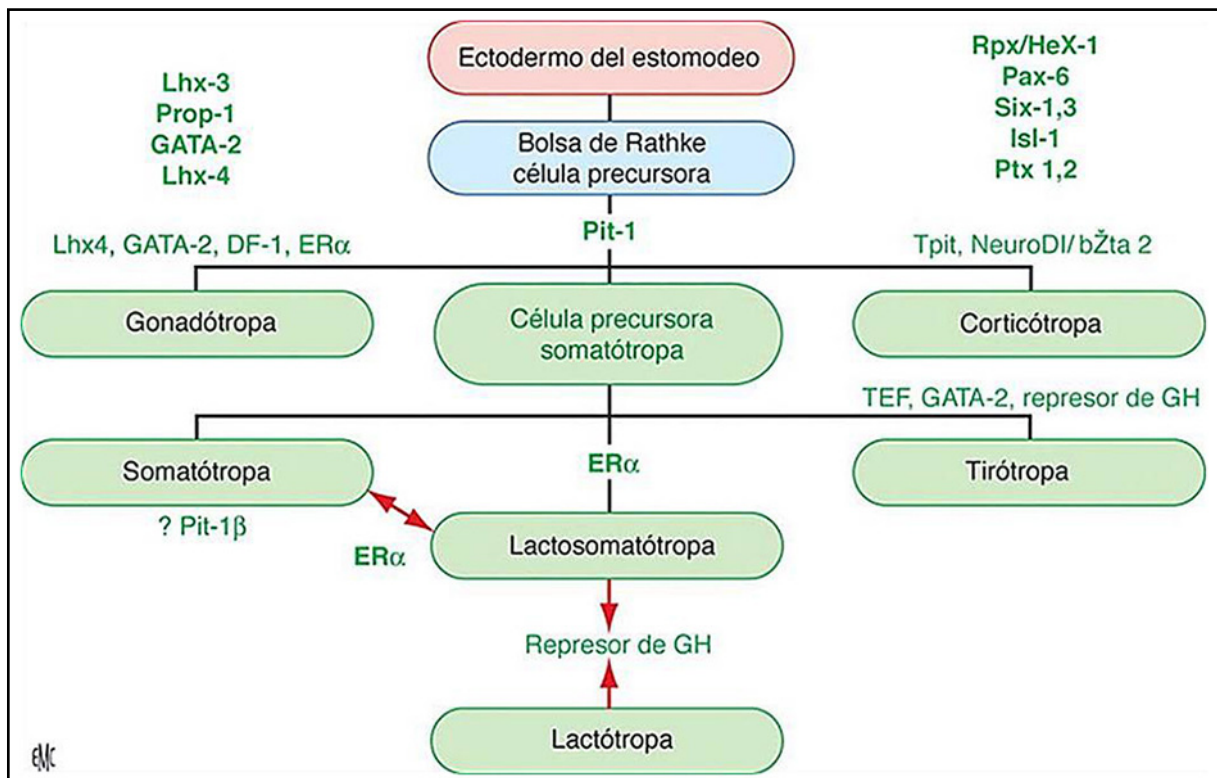


Fig. 1.32 Diferenciación de las células adenohipofisarias (ScienceDirect).

- **Corticotropas y melanotropas (Tpit o Tbx-19).**

La diferenciación terminal de los dos tipos de células que expresan **POMC**, las melanotropas que escinden **POMC** en la hormona estimulante de los melanocitos: α MSH y las corticotropas que escinden **POMC** en la **ACTH**, es impulsada por la expresión de **Tbx-19**, también conocido como **Tpit**. Las mutaciones inactivadoras en **Tpit** se asocian con deficiencia aislada de **ACTH**. La señalización **Notch** regula el equilibrio entre los linajes **Tpit** y **Pit1**. Los modelos de señalización reducida de **Notch** en la pituitaria muestran una diferenciación precoz de las corticotropas. Además, la activación de la señalización **Notch** en las células que expresan **POMC** previene la diferenciación de melanotropas y corticotropas. Esta incapacidad para diferenciarse está marcada por una mayor expresión de **Sox2** en el lóbulo intermedio.

- **NeuroD1**: se expresa en corticotropas y no solo es un regulador de la transcripción de **POMC**, sino que también está implicado en la diferenciación del linaje corticotropo. La pérdida de **Neurod1** retrasa la diferenciación de corticotropas.

- **PAX7**: es un regulador importante de la identidad de melanotropas y se detecta en las células del lóbulo intermedio que coexpresan **Tpit**.

- **Somatotropas, lactotropas y tiotropas (Pit1).**

El dominio **POU**, factor de transcripción 1 (**Pit1**), es un determinante principal de la diferenciación terminal de tres tipos de células productoras de hormonas: somatotropas, lactotropas y tiotropas. **Pit1** es necesario para la expansión posnatal y se detecta por primera vez en e13.5, aumenta su expresión en la edad adulta. Se cree que la vía de señalización **Notch** y **Prop1** son los reguladores primarios de expresión **Pit1**.

- **Somatotropas**: provienen del **Pit1** y necesitan del **NeuroD4** para su diferenciación. Los estudios que utilizaron la ablación dirigida de somatotropas demostraron una disminución significativa de las células lactotropas, lo que indica que las lactotropas maduras pueden derivar de una célula precursora que expresa **GH** denominada **mamosomatotropas**. Sin embargo, estos estudios son algo controvertidos ya que el rastreo de linajes sugiere que la mayoría de las lactotropas derivan de células progenitoras de la hipófisis.

- **Lactotropas**: derivan del **Pit1** y completan su diferenciación con **ZBTB20** y **ESRI**.

- **Tiotropas**: inducidas por **Pit1** y completan la diferenciación con **FOXL2**, **GATA2**, **TEF**.

- **Gonadotropas**: necesitan **FOXL2**, **GATA2**, **Lhx4** completado con **SFI**.

1.10 Influencia hormonal en la diferenciación pituitaria

La glándula pituitaria es una directora de orquesta endocrina y está regulada por retroalimentación de los tejidos periféricos. La liberación de hormonas: esteroides sexuales, hormonas tiroideas, glucocorticoides (GC) y factor de crecimiento similar a la insulina 1 (**IGF-1**) en los tejidos periféricos retroalimentan a la hipófisis para asegurar el equilibrio homeostático. Las células endocrinas pituitarias están controladas por las hormonas periféricas que pueden regular su diferenciación y especificación.

En respuesta a la activación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), las corticotropas liberan **ACTH** que actúa sobre la glándula suprarrenal induciendo la liberación de glucocorticoides (GC) que regulan los tejidos periféricos y retroalimentan negativamente tanto a la pituitaria como al hipotálamo. El aumento en el número de células y la capacidad de la dexametasona para atenuar esta respuesta indican que los GC son capaces de regular la diferenciación de las corticotropas. Se demostró que los GC regulan positivamente la diferenciación somatotrópica. La secreción de **GH** en las somatotropas estimula la producción de **IGF-1** desde el hígado y retroalimenta negativamente al eje hipotalámico-pituitario para suprimir la liberación de GH. El **IGF-1** es necesario para mantener el número correcto de somatotropas. Los **estrógenos** actúan sobre la diferenciación de las lactotropas y gonadotropas. El tamoxifeno, un modulador del receptor de estrógeno, tienen un mayor número de gonadotropas. Además, la gonadectomía provoca un aumento de gonadotropas.

Sintetizando, la regulación hormonal de la pituitaria es importante para la diferenciación del linaje hipofisario.

Referencias

- Ambrosetti DC et al. Modulation of the activity of multiple transcriptional activation domains by the DNA binding domains mediates the synergistic action of Sox2 and Oct-3 on the fibroblast growth factor-4 enhancer. *J Biol Chem* 275:23387-23397, 2000.
- Andersen B, Rosenfeld MG. POU domain factors in the neuroendocrine system: lessons from developmental biology provide insights into human disease. *Endocr Rev* 22:2-35, 2001.
- Angotzi AR et al. Involvement of Prop 1 homeobox in the early development of fish pituitary gland. *Gen Comp Endocrinol* 171(3):332-340, 2011.
- Bakrania P et al. Las mutaciones en BMP4 causan anomalías en el desarrollo de los ojos, el cerebro y los dedos: superposición entre las vías de señalización de BMP4 y hedgehog. *Am J Hum Genet* 82(2):304-19, 2008.
- Bazina M et al. Influence of growth and transcriptional factors, and signaling molecules on early human pituitary development. *J Mol Histol* 40(2):277-286, 2009.
- Bhati M et al. Implementación del código LIM: la base estructural para el ensamblaje específico de tipo celular de complejos LIM-homeodominio. *EMBO J* 27: 2018-2029, 2008.
- Bilodeau S et al. Funciones de los distintos inhibidores del ciclo celular p57 Kip2 y p27 Kip1 que caracterizan la salida del ciclo celular del progenitor pituitario y la reentrada del ciclo celular de células diferenciadas. *Mol Cell Biol* 29: 1895-1908, 2009.
- Bodner M et al. The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell* 55:505-518, 1988.
- Briata P et al. La vía Wnt/ β -catenina \rightarrow Pitx2 controla el recambio de Pitx2 y otros ARNm inestables. *Mol Cell* 12: 1201-1211, 2003.
- Brickman JM et al. Molecular effects of novel mutations in Hesx1/HESX1 associated with human pituitary disorders. *Development* 128:5189-5199, 2001.
- Cai Y et al. Las proteínas de unión a ADN monocatenarias regulan la abundancia y función del factor de transcripción del homeodominio LIM LHX2 en las células pituitarias. *Biochem Biophys Res Commun* 373: 303-308, 2008.
- Carreño G et al. Se requiere erizo sónico hipotalámico para la especificación celular y la proliferación de precursores embrionarios hipofisarios LHX3/LHX4. *Development* 144 (18): 3289-3302, 2017.
- Carvalho LR et al. A homozygous mutation in HESX1 is associated with evolving hypopituitarism due to impaired repressor-corepressor interaction. *J Clin Invest* 112:1192-1201, 2003.
- Charles MA et al. PITX genes are required for cell survival and Lhx3 activation. *Mol Endocrinol* 19:1893-190, 2005.
- Chen J et al. The notch signaling system is present in the postnatal pituitary: marked expression and regulatory activity in the newly discovered side population. *Mol Endocrinol* 20:3293-3307, 2006.
- Cheungy LYM, Camper SA. La señalización del ácido retinoico dependiente de PROP1 regula la morfogénesis hipofisaria del desarrollo y la expresión hormonal. *Endocrinology* 161 (2): bqaa002, 2020.
- Cónsole GM. The pituitary gland: normal and pathologic morphology. EDULP y Red de Universidades Nacionales (REUN). Ed. UNLP, 2017.
- Cushman LJ et al. Persistent Prop1 expression delays gonadotrope differentiation and enhances pituitary tumor susceptibility. *Hum Mol Genet* 10:1141-1153, 2001.
- Dasen JS et al. Reciprocal interactions of Pit-1 and GATA-2 mediate signaling gradient-induced determination of pituitary cell types. *Cell* 97(5):587-598, 1999.
- Dasen JS, Rosenfeld MG. Signaling and transcriptional mechanisms in pituitary development. *Annu Rev Neurosci* 24:327-355, 2001.
- Davis SW et al. All hormone-producing cell types of pituitary intermediate and anterior lobes derive from Prop-1-expressing progenitors. *Endocrinology* 157(4):1385-1396, 2016.

- Davis SW et al. Genetics, genes expression and bioinformatics of pituitary gland. *Horm Res* 71(Suppl 2):101-115, 2009.
- Davis SW et al. Molecular mechanisms of pituitary organogenesis: in search of novel regulatory genes. *Mol Cell Endocrinol* 323(1):4-19, 2010.
- Davis SW et al. Se requiere β -*catenina* en la cresta neural y el mesencéfalo para la organogénesis de la glándula pituitaria. *Dev Biol* 16:16, 2016.
- Davis SW, Camper SA. Noggin regulates Bmp4 activity during pituitary induction. *Dev Biol* 305:145-160, 2007.
- de Moraes DC et al. Pituitary development: a complex, temporal regulated process dependent on specific transcriptional factors. *J Endocrinol* 215(2):239-245, 2012.
- Douglas KR et al. Identification of members of the Wnt signaling pathway in the embryonic pituitary gland. *Mamm Genome* 12:843-851, 2001.
- Drouin J et al. The PTX family of homeodomain transcription factors during pituitary development. *Mol Cell Endocrinol* 140:31-36, 1998.
- Dutta S et al. Pitx3 define un dominio de equivalencia para el cristalino y la placa de la hipófisis anterior. *Development* 132: 1579-1590, 2005.
- Ericsson J et al. Integrated FGF and BMP signaling controls the progression of progenitor cell differentiation and the emergence of pattern in the embryonic anterior pituitary. *Development* 125(6):1005-15, 1998.
- Fauquier T et al. Las células progenitoras que expresan SOX2 generan todos los tipos de células principales en la glándula pituitaria del ratón adulto. *Proc Natl Acad Sci USA* 105: 2907-2912, 2008.
- Gage PJ et al. The bicoid-related Pitx gene family in development. *Mamm Genome* 10:197-200, 1999.
- Gaston-Massuet C et al. Genetic interaction between the homeobox transcription factors HESX1 and SIX3 is required for normal pituitary development. *Dev Biol* 324:322-333, 2008.
- Gordon DF et al. Domains of Pit-1 required for transcriptional synergy with GATA-2 on the beta gene. *Endocrinol Cell Mol* 196(1-2):53-66, 2002.
- Hayward P et al. Wnt/Notch signalling and information processing during development. *Development* 135:411-424, 2008.
- Himes AD, Raetzman LT 2009 Premature differentiation and aberrant movement of pituitary cells lacking both Hes1 and Prop1. *Dev Biol* 325:151-161, 2009.
- Jones CM et al. Involvement of bone morphogenetic protein-4 (BMP-4) and Vgr-1 in morphogenesis and neurogenesis in the mouse. *Development* 111:531-542, 1991.
- Kelberman D et al. Mutations within Sox2/SOX2 associated with abnormalities in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in mice and humans. *J Clin Invest* 116:2442-2455, 2006.
- Kelberman D et al. SOX2 plays a critical role in the pituitary, forebrain and eye during human embryonic development. *J Clin Endocrinol Metab* 93:1865-1873, 2008.
- Kelberman D. Genetic Regulation of Pituitary Gland Development in Human and Mouse. *Medicina* 76(4):258-260, 2016.
- Kioussi C et al. Identificación de una vía Wnt/Dvl/ β -catenina \rightarrow Pitx2 que media la proliferación específica de tipo celular durante el desarrollo. *Celda* 111: 673-685, 2002.
- Kioussi C et al. Pax6 is essential for establishing ventral-dorsal cell boundaries in pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci* 96(25):14378-82, 1999.
- Kita A et al. Hes1 and Hes5 control the progenitor pool, intermediate lobe specification, and posterior lobe formation in the pituitary development. *Mol Endocrinol* 21:1458-1466, 2007.
- Kurokawa D et al. Regulation of Otx2 expression and its functions in mouse epiblast and anterior neuroectoderm. *Development* 131:3307-3317, 2004.
- Lamolet B et al. Un factor de caja T restringido por células pituitarias, Tpit, activa la transcripción de POMC en cooperación con homeoproteínas de Pitx. *Celda* 104:849-859, 2001.
- Lamonerie T et al. Ptx1, a bicoid-related homeo box transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene. *Genes Dev* 10:128-1295, 1996.

- Lanctôt C et al. The bicoid-related homeoprotein Ptx1 defines the most anterior domain of the embryo and differentiates posterior from anterior lateral mesoderm. *Development* 124:2807-2817, 1997.
- Lo A et al. GATA transcription factors regulate LH β gene expression. *J Mol Endocrinol* 47(1):45-58, 2011.
- López-Ríos J et al. Six3 and Six6 activity is modulated by members of the Groucho family. *Development* 130:185-195, 2003.
- Martinez-Barbera JP et al. The homeobox gene *Hesx1* is required in the anterior neural ectoderm for normal forebrain formation. *Dev Biol* 223:422-430, 2000.
- Monahan P et al. El gen diana de notch HES1 regula la expresión del inhibidor del ciclo celular en la hipófisis en desarrollo. *Endocrinología* 150(9):4386-94, 2009.
- Mullen RD et al. Funciones de los factores del homeodominio LIM de LHX3 y LHX4 en el desarrollo hipofisario. *Endocrinol Cel Mol* 265-266:190-5, 2007. *Endocrinol Cel Mol* 265-266:190-5, 2007.
- Mullis P. *Transcription Factors in Pituitary Gland Development and Their Clinical Impact on Phenotype.* *Horm Res* 54:107-119, 2000.
- Nantie LB et al. Notch signaling pituitary expansion: proliferation, progenitors and cell specification. *Mol Endocrinol* 28(5):731-744, 2014.
- Nantie LB et al. Señalización de muesca en la expansión hipofisaria posnatal: proliferación, progenitores y especificación celular. *Mol Endocrinol* 28(5):731-44, 2014.
- Nassiri F et al. Pituitary stem cells: candidates and implications. *Pituitaria* 16(3):413-418, 2013.
- Norlin S et al. Fibroblast growth factor signaling is required for the proliferation and patterning of progenitor cells in the developing anterior pituitary. *Mech Dev* 96:175-182, 2000.
- Olson LE et al. Paired-like repression/activation in pituitary development. *Recent Prog Horm Res* 58:249-261, 2003.
- Paracchini R et al. Two new PROP1 gene mutations responsible for compound pituitary hormone deficiency. *Clin Genet* 64:142-147, 2003.
- Pérez Millán Mi et al. PROP1 desencadena un proceso similar a una transición epitelial-mesenquimatosa en las células madre pituitarias. *Elife* 5:e14470, 2016.
- Pfaffle R, Klammt J. Pituitary transcription factors in the aetiology of combined pituitary deficiency. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 25(1):43-60, 2011.
- Potok MA et al. WNT signaling affects gene expression in the ventral diencephalon and pituitary gland growth. *Dev Dyn* 237:1006-1020, 2008.
- Poulin G et al. NeuroD1/ β 2 contributes to cell-specific transcription of the proopiomelanocortin gene. *Mol Cell Biol* 17:6673-6682, 1997.
- Pulichino AM et al. *Tpit* determines alternate fates during pituitary cell differentiation. *Genes Dev* 17:738-747, 2003.
- Pyczek J y col. La activación de la señalización del erizo induce la proliferación de células madre y la liberación de hormonas en la glándula pituitaria adulta. *Sci Rep* 6:24928, 2016.
- Quentien MH et al. Pitx factors are involved in basal and hormone-regulated activity of the human prolactin promoter. *J Biol Chem* 277:44408-44416, 2002.
- Quentin MH et al. Truncation of PITX2 differentially affects its activity on physiological targets. *J Mol Endocrinol* 46(1):9-19, 2010.
- Raetzman LT et al. Developmental regulation of Notch signaling genes in the embryonic pituitary: Prop1 deficiency affects Notch2 expression. *Dev Biol* 265:329-340, 2004.
- Raetzman LT et al. *Hes1* es necesario para el crecimiento pituitario y la especificación de melanotropos. *Dev Biol* 304(2):455-66, 2007.
- Raetzman LT et al. *Lhx4* y *Prop1* son necesarios para la supervivencia celular y la expansión de los primordios pituitarios. *Development* 129: 4229-4239, 2002.
- Rhinn M et al. Cell autonomous and non-cell autonomous functions of *Otx2* in patterning the rostral brain. *Development* 126:4295-4304, 1999.
- Rizzoti K et al. SOX3 is required during the formation of the hypothalamo-pituitary axis. *Nat Genet* 36:247-255, 2004.

- Rosenfeld MG et al. Multistep signaling and transcriptional requirements for pituitary organogenesis in vivo. *Recent Prog Horm Res* 55:1-13, 2000.
- Sajedi E et al. DNMT1 interacts with the developmental transcriptional repressor HESX1. *Biochim Biophys Acta* 1783:131-143, 2008.
- Sheng HZ et al. Pituitary organogenesis controlled by LIM-homeobox genes. *Dev Biol* 186:B132, 1997.
- Simmons DM y col. Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes & Dev* 4:695-711, 1990.
- Sloop KW et al. LHX3 transcription factor mutations associated with combined pituitary hormone deficiency impair the activation of pituitary target genes. *Gene* 265:61-69, 2001.
- Sobrier ML et al. Alu-element insertion in the homeodomain of HESX1 and aplasia of the anterior pituitary. *Hum Mutat* 25:503, 2005.
- Sornson MW et al. Pituitary lineage determination by the Prophet of Pit-1 homeodomain factor defective in Ames dwarfism. *Nature* 384:327-333, 1996.
- Suh H et al. Pitx2 se requiere en múltiples etapas de la organogénesis pituitaria: formación del primordio hipofisario y especificación celular. *Development* 129: 329-337, 2002.
- Susa T et al. Los factores LIM altamente relacionados, LMO1, LMO3 y LMO4, desempeñan diferentes funciones en la regulación de la hormona glicoproteica pituitaria gen común de la subunidad α . *Biosci Rep*, 2009.
- Susa T et al. Paired-related homeodomain proteins PRX1 and PRX2 are expressed in embryonic pituitary stem/progenitor cells and may be involved in the early stage pituitary differentiation. *J Neuroendocrinol* 24(9):1201-12, 2012.
- Szeto DP et al. P-OTX: a PIT-1-interacting homeodomain factor expressed during anterior pituitary gland development. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:7706-7710, 1996.
- Szeto DP et al. Role of the Bicoid-related homeodomain factor Pitx1 in specifying hindlimb morphogenesis and pituitary development. *Genes Dev* 13:484-494, 1999.
- Tajima T et al. A novel missense mutation (P366T) of the LHX4 gene causes severe combined pituitary hormone deficiency with pituitary hypoplasia, ectopic posterior lobe and a poorly developed sella turcica. *Endocr J* 54:637-641, 2007.
- Tajima T et al. OTX2 loss of function mutation causes anophthalmia and combined pituitary hormone deficiency with a small anterior and ectopic posterior pituitary. *J Clin Endocrinol Metab* 94:314-319, 2009.
- Takuma N et al. La formación de la bolsa de Rathke requiere la inducción dual desde el diencefalo. *Development* 125: 4835-4840, 1998.
- Thomas PQ et al. Sequence, genomic organization, and expression of the novel homeobox gene *Hesx1*. *J Biol Chem* 270:3869-3875, 1995.
- Treier M et al. Hedgehog signaling is required for pituitary gland development. *Development* 128:377-386, 2001.
- Treier M. et al. Requisitos de señalización de varios pasos para la organogénesis hipofisaria in vivo. *Desarrollo de genes* 12(11):1691-704, 1998.
- Tremblay JJ et al. The pan-pituitary activator of transcription, Ptx1 (pituitary homeobox 1), acts in synergy with SF-1 and Pit1 and is an upstream regulator of the Lim-homeodomain gene *Lim3/Lhx3*. *Mol Endocrinol* 12:428-441, 1998.
- Vankelecom H and Chen J. Pituitary stem cells: Where do we stand? *Endocrinol Cell Mol* 385(1-2):2-17, 2014.
- Vankelecom H and Gremeaux L. Stem cells in the pituitary gland: a burgeoning field. *Gen Comp Endocrinol* 166(3):478-488, 2010.
- Vesper AH et al. Role of prophet of Pit1 (PROP1) in gonadotrope differentiation and puberty. *Endocrinology* 147:1654-1663, 2006.
- Ward RD et al. Role of PROP1 in pituitary gland growth. *Mol Endocrinol* 19:698-710, 2005.
- Watanabe YG. An organ culture study on the site of determination of ACTH and LH cells in the rat adenohypophysis. *Cell Tissue Res* 227:267-275, 1982a.
- Watanabe YG. Effects of brain and mesenchyme upon the cytogenesis of rat adenohypophysis in vitro. I. Differentiation of adrenocorticotropes. *Cell Tissue Res* 227:257-266, 1982b.

- Welcker JE et al. Insm1 controls development of pituitary endocrine cells and requires a SNAG domain for function and recruitment of histone-modifying factors. *Development* 140(24):4947-58, 2013.
- Whitney E, Raetzman LT. Se requiere una integración compleja de la señalización intrínseca y periférica para el desarrollo de la glándula pituitaria. *Biol Reprod* 99(3):504-513, 2018.
- Wood HB, Episkopou V. Comparative expression of the mouse Sox1, Sox2 and Sox3 genes from pre-gastrulation to early somite stages. *Mech Dev* 86:197-201, 1999.
- Wu W et al. Mutations in PROP1 cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet* 18:147-149, 1998.
- Yako H et al. Three-dimensional studies of Prop1-expressing cells in the rat pituitary is before birth. *Cell Tissue Res* 354(3):837-847, 2013.
- Yoshida S et al. PROP1 coexists with SOX2 and induces PIT1-commitment cells. *Biochem Biophys Res Commun* 385(1):11-15, 2009.
- Yoshida S et al. Rapid transition of NESTIN-expressing dividing cells from PROP-1po 25(9):779-791, 2013.
- Zhang S y col. La transcriptómica unicelular identifica trayectorias de linaje de desarrollo divergentes durante el desarrollo de la hipófisis humana. *Nat Commun* 11: 5275, 2020.
- Zhang Z et al. MicroRNAs regulate pituitary development, and microRNA 26b specifically targets lymphoid factor 1 (Lef-1), which modulates pituitary transcription factor 1 (Pit-1) expression. *J Biol Chem* 285(45):34718-28, 2010.
- Zhao Y et al. Reduced expression of the LIM-homeobox gene Lhx3 impairs growth and differentiation of Rathke's pouch and increases cell apoptosis during mouse pituitary development. *Mech Dev* 123:605-613, 2006.
- Zhu CC et al. Six3-mediated auto repression and eye development requires its interaction with members of the Groucho-related family of co-repressors. *Development* 129:2835-2849, 2002.
- Zhu X et al. Sustained Notch signaling in progenitors is required for sequential emergence of distinct cell lineages during organogenesis. *Genes Dev* 20:2739-2753, 2006.

CAPÍTULO 2

CÉLULAS MADRE HIPOFISARIAS

2.1 Tipos de células madre

Las células madre son indiferenciadas, autorrenovables, se diferencian en diversas líneas celulares y se usan para tratar: diabetes mellitus, leucemia, infarto de miocardio y enfermedades neurodegenerativas. Fuentes de células madre: cigoto (embrión unicelular), blastocisto (macizo celular interno), cordón umbilical, adultos (fig. 2.1).

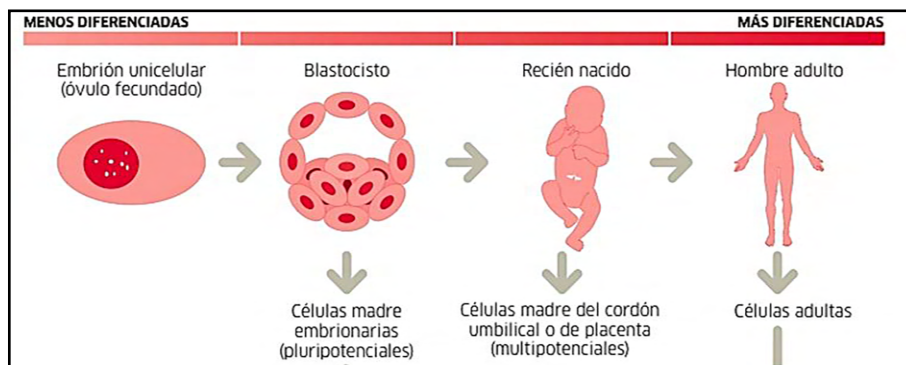


Fig. 2.1 Fuentes de las células madre (Pinterest).

Tipos de células madre (fig. 2.2).

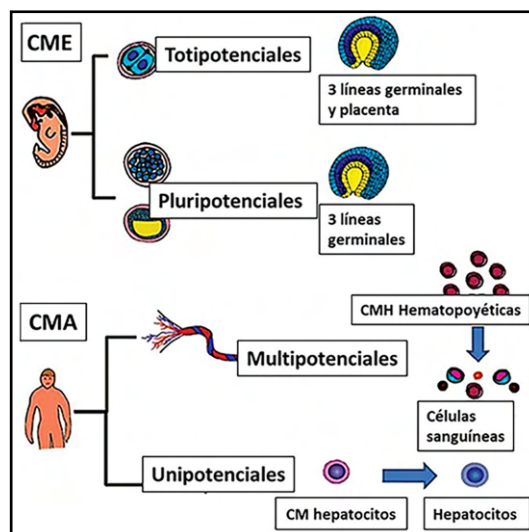


Fig. 2.2 Tipos de células madre (SciELO).

- **Totipotenciales:** capaces de engendrar un organismo embrionario completo en sus 3 hojas germinativas: ectodermo, mesodermo, endodermo y de desarrollar tejidos extraembrionarios: amnios, saco vitelino, alantoides, corion.

- **Pluripotenciales:** pueden diferenciarse en cualquiera de los tejidos de los 3 linajes embrionarios (endodermo, ectodermo y mesodermo), incluyendo las células sexuales o germinales. No pueden formar un organismo completo y se localizan en el polo embrionario del blastocisto.

- **Multipotenciales:** capaces de generar células de su propia capa embrionaria, es decir, tejidos del endodermo, ectodermo y mesodermo. También se les denomina células madre órgano-específicas y pueden generar un órgano en su totalidad, sea en el embrión o en el individuo adulto. Pueden obtenerse de una gran variedad de fuentes: médula ósea, cordón umbilical, cerebro, piel, miocardio, músculo esquelético, retina y páncreas.

Por su lugar de origen se clasifican en:

- **Embrionarias (CME):** capaces de producir células de las tres hojas germinativas: ectodermo (ej.: piel, neuronas, ojos, oídos), mesodermo (médula ósea, esqueleto, músculo estriado, miocardio, vasos sanguíneos) y endodermo (páncreas, hígado, pulmón, vejiga). Son pluripotenciales y puede ser extraídas del macizo celular interno del blastocisto y de cultivos.

- **Adultas (CMA) o mesenquimáticas (CMM):** se hallan en los tejidos adultos: conectivo, cordón umbilical, sangre y tejidos fetales. Pueden ser multipotenciales o unipotenciales. Conservan y restauran tejidos. Se extraen de tejidos adultos: conectivo, sangre, piel, médula ósea, tejidos fetales o del cordón umbilical.

- **Células madre hematopoyéticas (CMH):** los primeros trabajos clínicos realizados con células madre fueron los trasplantes de médula ósea, fuente principal de obtención de células madre hematopoyéticas, responsables de la producción de todos los tipos celulares sanguíneos. Se emplean en el tratamiento de leucemias, linfomas, neuroblastomas, mieloma múltiple y enfermedades no cancerígenas: talasemia, anemia falciforme, inmunodeficiencias, alteraciones congénitas del metabolismo y aplasia medular.

Mendez-Ferrer y col. (2010) demostraron que las células madre mesenquimáticas (CMM), identificadas mediante la expresión de **nestina**, constituyen un componente de nicho esencial de las células madre hematopoyéticas (CMH). Las CMM **Nestina**⁺ contienen toda la actividad fibroblástica de la unidad formadora de colonias de médula ósea y pueden propagarse como *mesesferas* que pueden autorrenovarse y expandirse en los trasplantes. Algunos genes desencadenan la diferenciación osteoblástica.

La parathormona duplica el número de células **nestina**⁺ de la médula ósea, favoreciendo su diferenciación osteoblástica, la depleción de células **nestina**⁺ *in vivo* y reduce el contenido de CMH en la médula ósea. Estos resultados revelan una asociación sin precedentes entre 2 tipos distintos de células madre somáticas y son indicativos de un nicho único en la médula ósea formado por pares de células madre heterotípicas.

- **Pluripotenciales inducidas: (iPS):** pueden ser obtenidas de tejidos fetales o adultos. En la actualidad existen procedimientos de reprogramación celular, que permiten desarrollar células madre con características similares a las CME mediante *somatic cell nuclear transfer* o **clonación:** se trasplanta un núcleo de una célula somática a un óvulo sin núcleo. Así se obtuvo la oveja Dolly. En 2006, Shinya Yamanka descubrió una técnica implementada para el desarrollo de CMA o fetales a células madre similares a las CME, demostrando que las células somáticas podían ser reprogramadas a iPS. Se alteraba la genética de la célula adulta, introduciendo 4 genes específicos de células madre (**Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc**) que son los responsables de controlar el proceso de diferenciación. Sin embargo, se puede inducir la formación de tumores generados por la reactivación del protooncogén

c-Myc. Por ello, se lo ha eliminado mediante métodos de transducción mejorados para la producción de iPS seguras (**fig. 2.3**).

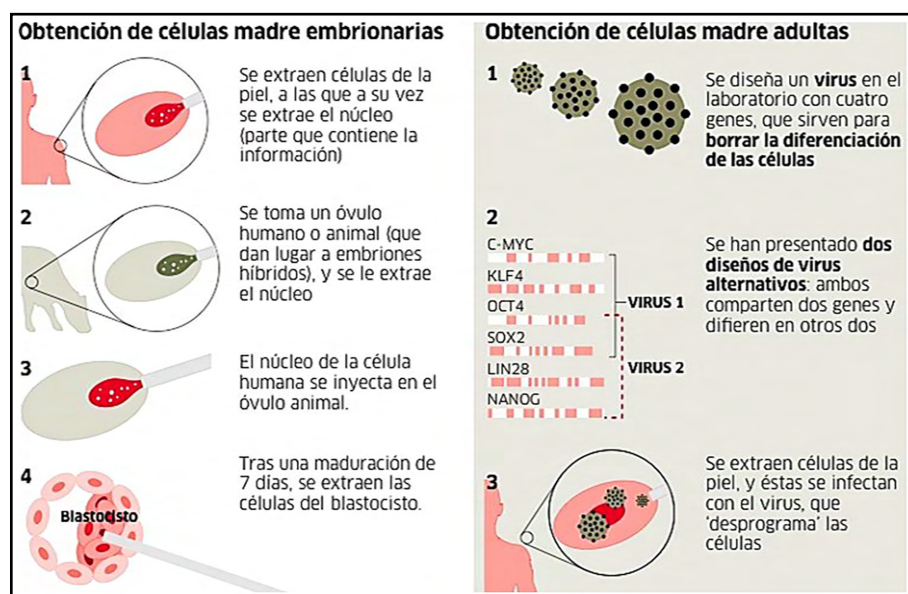


Fig. 2.3 Células pluripotenciales inducidas: (iPS) (Pinterest).

- **Cordón umbilical:** es una fuente de gran relevancia para la obtención de células madre (CMH y CMM). Se diferencian en los 3 tipos de células sanguíneas: eritrocitos, leucocitos o plaquetas. Existen bancos de cordones umbilicales para que los pacientes que en un futuro presenten enfermedades hematológicas, puedan recurrir a tratamientos de trasplante de su propio cordón umbilical, evitando problemas de compatibilidad.

- **Enfermedades neurológicas:** terapia celular en Alzheimer, Parkinson y Huntington. Ofrece la posibilidad de generar neuronas. En el Parkinson se busca recuperar la función de las vías dopaminérgicas del cuerpo estriado.

Concluyendo: a pesar de todo el debate científico, político y ético, se abre la posibilidad de emplear células madre en el tratamiento de numerosas enfermedades.

2.2 Detección de las células madre en la zona marginal

La hipófisis se caracteriza por ser una glándula endocrina que posee células secretoras de hormonas reguladoras de procesos vitales fundamentales. Se han propuesto diferentes tipos celulares como candidatas a células madre.

La hipófisis presenta **adenohipófisis** y **neurohipófisis** (**fig. 2.4**):

1. Adenohipófisis.

- a) Lóbulo anterior o *pars distalis* (PD).
- b) Lóbulo intermedio o *pars intermedia* (PI).
- c) Lóbulo infundibular-tuberal o *pars tuberalis* (PT).
- d) Hendidura de bolsa de Rathke (HBR).

2. Neurohipófisis.

- d) Eminencia media (EM).
- e) Tallo infundibular (TI).
- f) Lóbulo posterior o *pars neural* (PN).

La zona entre la *pars distalis* (PDis) y *pars intermedia* (PI) cercana a la hendidura de la bolsa de Rathke (HBR) se conoce como **zona marginal (MZ)** donde se origina una **población secundaria (SP)** formada por dos líneas de células. En el humano toma aspecto quístico con secreción. En el humano, día 55 poscigoto la bolsa de Rathke está cerrada. A partir de ella y en presencia de factores de transcripción y moléculas de señal, comenzarán a aparecer los diferentes tipos celulares endocrinos diferenciados.

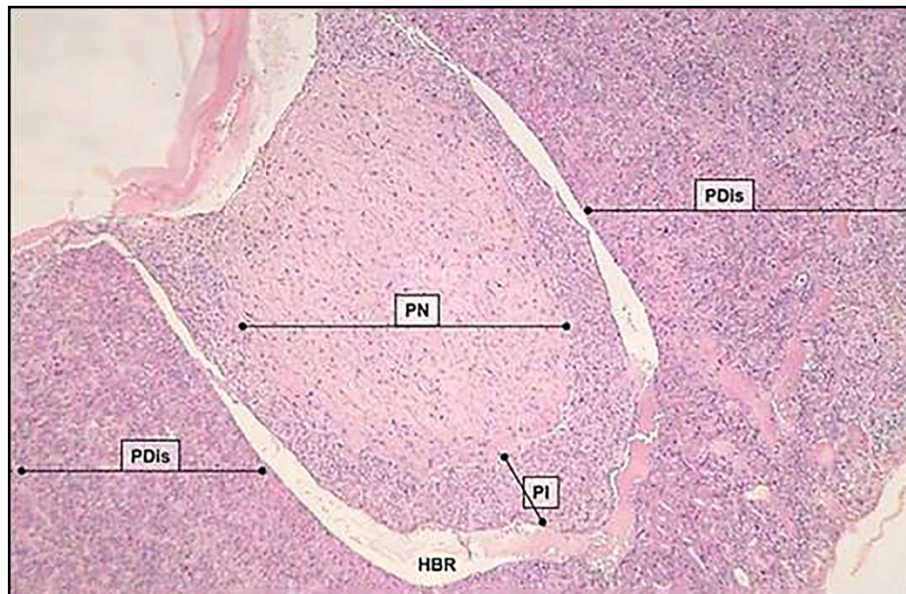


Fig. 2.4 Regiones hipofisarias: zona de hendidura de bolsa de Rathke (HBR); población secundaria (SP) (Atlas de Histología, Cónsole G, Vidal M).

Es difícil trabajar con células madre adultas purificadas de hipófisis normales de roedores pero resulta fundamental hallar modelos alternativos para aprender sobre este proceso de conversión de “**célula madre (*stem*) a célula diferenciada secretora de hormonas**”. Se examinó dicha “**población secundaria**” (SP) y se demostró que una parte de la fracción de los marcadores **no Sca1** agrupa células madre hipofisarias **Sox2** y **Sox9**, en asociación con factores involucrados en la embriogénesis pituitaria. La población secundaria (SP) **no Sca1** encierra las células que generan esferas y muestran capacidad de diferenciación hormonal multipotente. Las células **SP no Sca1**, reveladas por la expresión de **Sox2**, se observan en el nicho de células madre periluminal postulado, pero también en pequeños grupos esparcidos por la glándula, lo que se considera la existencia de múltiples nichos (Chen y col., 2009).

Los enfoques regenerativos tienen como objetivo abordar trastornos como el hipopituitarismo y se basan en la comprensión de las características del desarrollo embrionario normal y el compromiso del destino pituitario. Las células madre pluripotenciales han ayudado en este proceso al estudiar las *moléculas de señalización*. Es posible obtener células endocrinas en pleno funcionamiento *in vitro*, aunque de manera ineficiente, e incluso generarlas a partir de células madre embrionarias humanas mediante diferenciación dirigida. La especificación del ectodermo oral se logra mediante el tratamiento con la proteína morfogenética ósea (**BMP4**) y luego mediante agonistas de Sonic hedgehog (**Shh**) para generar la hipófisis anterior definitiva. Esto ocurre con una eficiencia baja, donde la mayoría de las células permanecen neuronales y solo una pequeña fracción de las células no neuronales (1-7%) expresan hormonas. (Russel y col., 2018).

En la **fig. 2.5** se muestran células **Sox2+** en 2 pituitarias humanas envejecidas (IF anti-Sox2). Se observa localización nuclear en células parenquimatosas individuales (puntas de flecha) y núcleos DAPI.

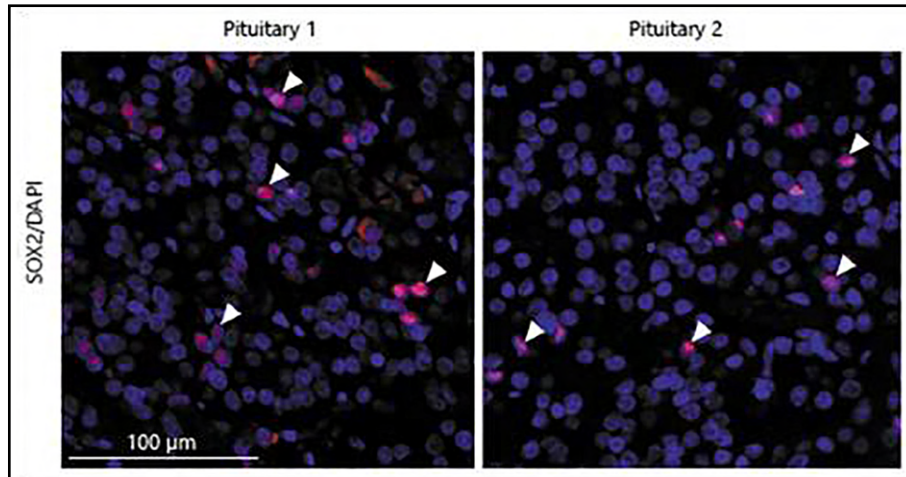


Fig. 2.5 Pituitarias envejecidas marcadas con anti-Sox2 (Russel y col., 2018).

2.3 Marcadores moleculares de las células madre

Hay controversias acerca de los marcadores moleculares expresados por las células madre hipofisarias:

- Se sostiene que las **Sox2+/Sox9+** constituyen la población *stem*.
- Las células madre serían la **Sox2+** y perderían **Sox9**.
- El marcador molecular de las células madre es la **Nestina**.

La pequeña población (< 0.05%) de células madre de la pituitaria adulta expresa **Sox2**. Dichas células forman “pituisferas” en cultivo y tienen capacidad para diferenciarse en todos los tipos de células endocrinas pituitarias y en células folículo-estelares (no endocrinas). La diferenciación celular se asoció con la expresión de **Nestina**, **Sox9** y **S100**. Las células que expresan **Sox-2** y **E-cadherina** se encuentran en la bolsa de Rathke y persisten en la glándula adulta, en especial en la zona de la hendidura pituitaria, pero también se encuentran dispersas por toda la pituitaria. Se sugiere que esta población **Sox2+/Sox9+** representa células amplificadoras de tránsito, mientras que las células **Sox2+/Sox9-** son células madre multipotenciales que persisten en la pituitaria adulta (Fauquier y col., 2008).

Se identificaron células madre adultas que expresan **Nestina** en la región periluminal pituitaria y, utilizando mapeo de destino genético, se demostró que sirven para generar subconjuntos de los 6 tipos de células endocrinas diferenciadas de la pituitaria. Estas células madre, aunque no juegan un papel significativo en la organogénesis, experimentan una expansión posnatal y comienzan a producir una progenie diferenciada que colonizan el órgano. Esto genera una glándula en mosaico con 2 subconjuntos fenotípicos similares de células endocrinas que tienen diferentes orígenes. Dichos linajes paralelos de células diferenciadas pueden ayudar al organismo a adaptarse a los múltiples cambios que se suceden en el proceso de maduración. Sin embargo en la adenohipófisis posnatal, la **Nestina** no colocaliza con hormonas, pero sí con células folículo-estelares que constituyen una población de células grandes no endocrinas. En ninguno de estos estudios **Nestina** aparece en la zona **MZ** de la hipófisis, como sucede con **Sox2**, y contacta, pero no colocaliza, con las células **GPS** (**G**: GFRa2+, **P**: Prop1+, **S**: Stem+, Oct4, Sox2, Sox9). Se ha confirmado que las células madre parenquimatosas del nicho hipofisario son negativas para **Nestina** (Gleiberman y col., 2008).

Existen numerosos estudios sobre la importancia de las vías de **Wnt/β-catenina**, **Notch**, **BMP**, **FGF** y **Shh** en la embriogénesis molecular hipofisaria. Se analizó cómo las células madre (*stem*) embrionarias (**ESC**) llegan a convertirse *in vitro* en células secretoras de hormonas hipofisarias y se logró agregando activadores o inhibidores de las vías de señalización.

Se obtuvieron agregados semejantes a la hipófisis a partir de ESC de ratón cultivadas con lípidos, glicerol y albúmina, pero sin factores de crecimiento, determinando que el factor más importante era el marcador hipofisario **Pitx1** que indicó la presencia de algún factor paracrino secretado dentro del agregado y el candidato es la **BMP**. Además, se demostró que la vía **Smo/Patch/Gli** con expresión de **Pitx1** activa la vía **Shh/Smo (Shh)** (agonista de **Smo**), siendo clave en la transición desde las células madre **ESC**. El hallazgo de una *población secundaria* mediante citometría de flujo fue el primer paso hacia una población de células madre más convincentes.

Se propusieron múltiples marcadores, entre los que el factor de transcripción de pluripotencial **Sox2** ocupa un lugar central. El estudio completo de las células madre puede guiarnos hacia una mejor comprensión de las deficiencias hormonales hipofisarias, así como de la tumorigénesis pituitaria (Vankelecom y col., 2010).

Se identificó, en roedores y humanos, un nicho de células no endocrinas caracterizadas por la expresión de **GFRa2**. Estas células también expresan **b-catenina** y **E-caderina**. Las células **GFRa2+** forman esferoides en cultivo y no producen hormonas. Estos esferoides pueden ser diferenciados a células productoras de hormonas o neuronas bajo estímulos específicos. También se detectaron células que expresan el factor de transcripción específico de células de la hipófisis **Prop1**, así como los marcadores de células madre **Sox2**, **Sox9** y **Oct4**. Las denominaron **células GPS** (**G**: GFRa2+, **P**: Prop1+, **S**: Stem+, Oct4, Sox2, Sox9). La mitad de estas células **GPS** expresan **S-100**, mientras que las células alargadas circundantes en contacto con las células **GPS** expresan **vimentina**.

In vivo, las células **GPS** presentan bajos niveles de proliferación tras el nacimiento, siendo capaces de retener BrdU y presentar núcleos con telómeros largos, propiedades características de las células madre *in vivo* (García Lavandeira y col., 2009).

Las células que carecen del supresor de tumores **p27** pueden reprogramarse en *células madre (stem) pluripotentes inducidas (iPSC)* en ausencia de **Sox2** ectópico. Curiosamente, las células y tejidos de ratones nulos para **p27** presentan una expresión basal elevada de **Sox2**, lo que sugiere que **p27** contribuye a la represión de **Sox2**. Además, las *iPSC* nulas de **p27** no logran reprimir completamente **Sox2** tras la diferenciación. La insuficiencia de **Sox2** rescata genéticamente algunos de los fenotipos característicos de los ratones nulos **p27**, incluidos: gigantismo, hiperplasia pituitaria, tumores pituitarios y defectos retinianos. Estos resultados demuestran una conexión sin precedentes entre **p27** y **Sox2**, relevantes para la reprogramación, las neoplasias y las patologías asociadas con mutaciones de la línea germinal de **p27** (Li y col., 2012)

La glándula pituitaria juega un papel fundamental en el sistema endocrino, dirigiendo los procesos de crecimiento, metabolismo, reproducción y estrés. La pituitaria adulta contiene células madre residentes, que están inactivas en condiciones homeostáticas. Sin embargo, las células muestran marcados signos de activación durante los procesos de remodelación celular, incluida la maduración en la edad neonatal, la adaptación a las demandas fisiológicas, la regeneración tras la lesión y el crecimiento de tumores locales.

Dado que las células madre posnatales reiteran las vías de desarrollo embrionario, se está prestando atención a las redes reguladoras involucradas en la embriogénesis hipofisaria.

Se estudiaron diversas vías: **Notch**, **Wnt**, transición epitelial-mesenquimal, **Shh** e **Hippo** en el compartimiento de células madre durante varias condiciones de activación desde la edad embrionaria hasta la edad neonatal y adulta. La mayor parte de la información proviene de la expresión de componentes moleculares que pertenecen a estas redes, mientras que la extrapolación funcional es todavía muy limitada.

De esta descripción general, se desprende que las vías embrionarias se reiteran de hecho en las células madre de la hipófisis posnatal homeostática. El conocimiento de estos hilos reguladores de las células madre pituitarias no solo proporcionará más información fundamental sobre la homeostasis y la activación postnatal de la pituitaria, sino también dará pistas sobre el proceso de regeneración que clarifiquen el tratamiento de las deficiencias hormonales y la tumorigénesis pituitaria (Cox y col., 2017)

En el momento en el que un factor de transcripción se expresa por encima de los otros, la célula se compromete a diferenciarse y ya no tiene regreso al estado *stem* pluripotencial. Por ejemplo, la sobreexpresión de **OCT4** convierte a las células madre embrionarias **ESC** en endodermo/mesodermo, perdiendo la potencialidad para hacer ectodermo. Por el contrario, la sobreexpresión de **Sox2** induce neuroectodermo sin regreso para poder ser endodermo o mesodermo. Los marcadores de células madre **Sox2**, se reprimen a sí

mismos en un mecanismo clásico de *feedback* negativo previniendo excesos, y al mismo tiempo activan la expresión de otros marcadores *stem*, como **OCT4**, asegurándose la coexpresión. Además, **Sox2** reprime la expresión de **p27** que bloquea la división e induce diferenciación.

2.4 Función de las células madre hipofisarias

Se investigó la función y la regulación de las células madre hipofisarias mediante diversos fluorómetros (proteína fluorescente verde nuclear (nGFP), proteína fluorescente amarilla (YFP), proteína fluorescente roja (RFP) y proteína fluorescente cian de membrana (mCFP)).

En la **fig. 2.6** se muestra la estrategia utilizada para estudiar las células madre embrionarias y post-natales en la pituitaria murina. Emplearon la cepa **R26-Confetti**, cruzada con una cepa **Cre** impulsada por el promotor **Hesx1** o una cepa **CreERT2** impulsada por el promotor **Sox2** (condicionada al tamoxifeno) (Russel y col., 2018).

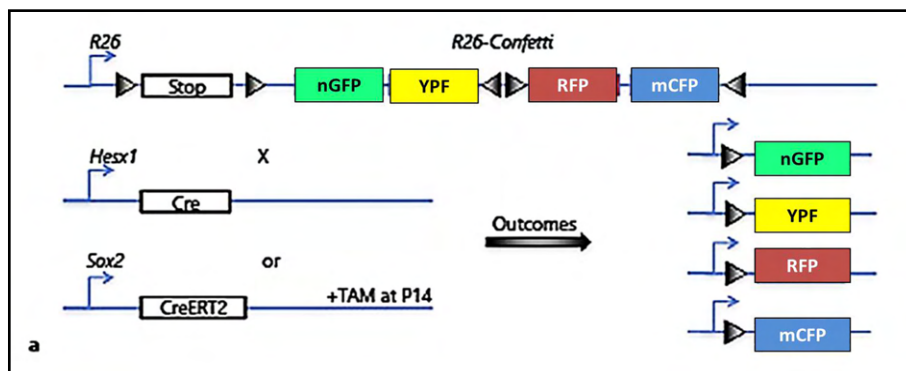


Fig. 2.6 Fluorómetros usados para marcar células madre (Russel y col., 2018).

La **fig. 2.7** muestra con **YAP/TAZ** la expresión nuclear amarilla en la población **SOX2+** de células madre pituitarias. La sustitución de las células dañadas mediante un trasplante de células podría restaurar la función pituitaria y curar de forma permanente el hipopituitarismo crónico.

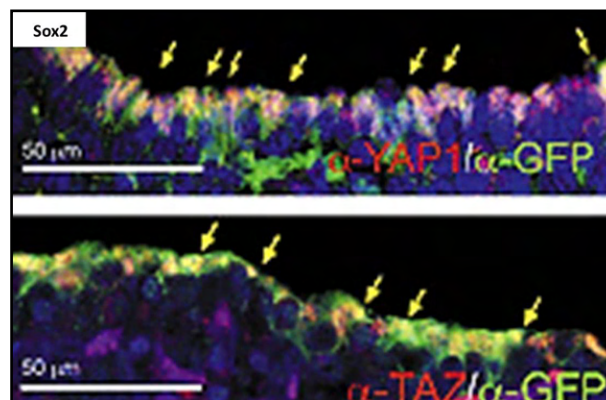


Fig. 2.7 Células Sox2+ (flechas amarillas) (Russel y col., 2018).

2.5 Placodas craneales: células madre pluripotenciales humanas (PSCh)

Las **placodas craneales** son estructuras embrionarias esenciales para el desarrollo de órganos sensoriales y endocrinos. Dincer y col. (2013) demostraron la derivación eficiente de las placodas craneales a partir de **hPSC**. La eliminación del inhibidor de **BMP-Noggin**, un componente inhibidor de la inducción neural dual-**SMAD**, desencadena la inducción de placodas.

La inhibición de la señalización del factor de crecimiento fibroblástico (FGF) interrumpe la derivación e induce al ectodermo de superficie. El destino en la etapa de preplacoda permite la generación selectiva de ganglios del trigémino derivados de placodas capaces de injerto *in vivo*, fibras de lentes maduras y células endocrinas de la pituitaria anterior que tras el trasplante producen GH y ACTH *in vivo*.

Zimmer y col. (2016) han registrado las diversas células pituitarias liberadoras de hormonas a partir de células madre pluripotentes humanas. Las células madre embrionarias humanas (ESCh) como las células madre pluripotentes humanas (PSCh) se utilizan para estudiar el desarrollo humano temprano (fig. 2.8).

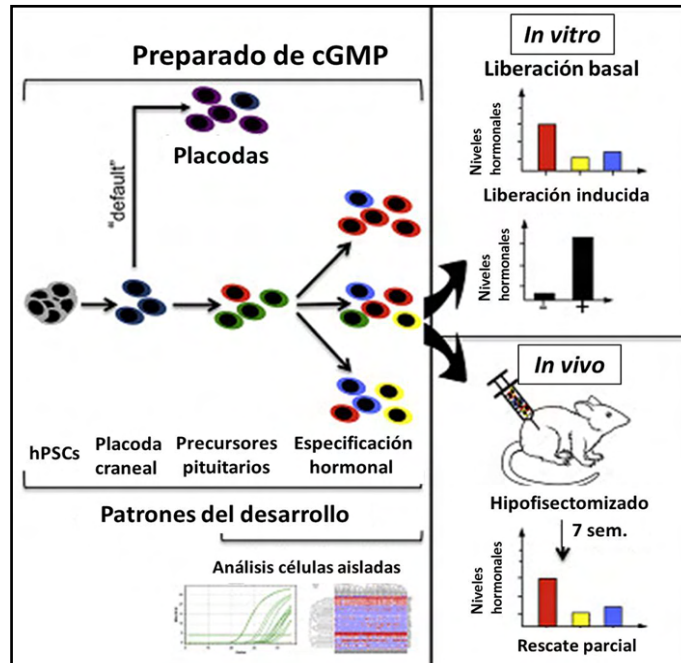


Fig. 2.8 PSChs → Placoda craneal → Precursores pituitarios → Especificación hormonal. (Zimmer y col., 2016).

En la fig. 2.9 se muestra el desarrollo *in vivo* PSCh en la placoda craneal y el protocolo para la diferenciación de PSCh (MCI: macizo celular interno).

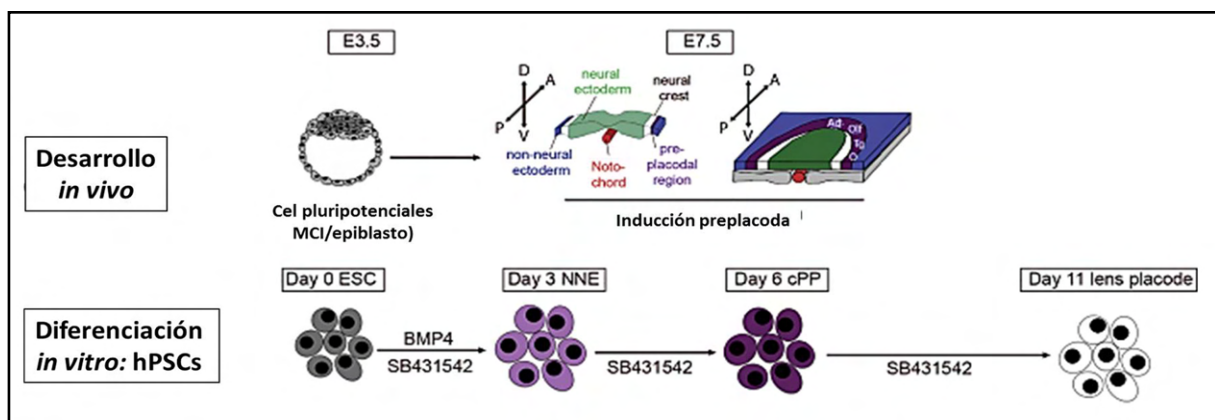


Fig. 2.9 Diferenciación de la placoda craneal a partir de PSCh (Zimmer y col., 2016).

En la **fig. 2.10** se muestra la especificación hipofisaria de **PSCh** derivadas de placoda craneal. Representación esquemática del desarrollo in vivo de la glándula pituitaria y el protocolo para la diferenciación dirigida de **hPSC** en células similares a la pituitaria anterior (**ICM/Epib1**): macizo celular interno. **NNE**: ectodermo no neural.

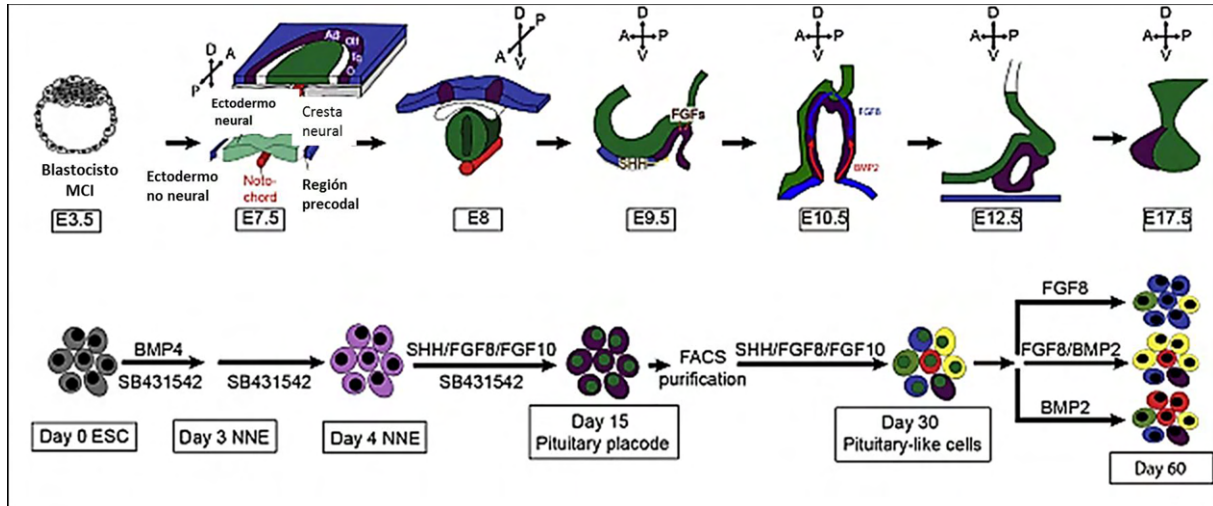


Fig. 2.10 Desarrollo de la pituitaria (30 días) (Zimmer y col., 2016).

La **fig. 2.11** muestra la IF de las células de la hipófisis anterior después de 30 días de diferenciación. El cultivo contiene corticotropas, somatotropas y gonadotropas.

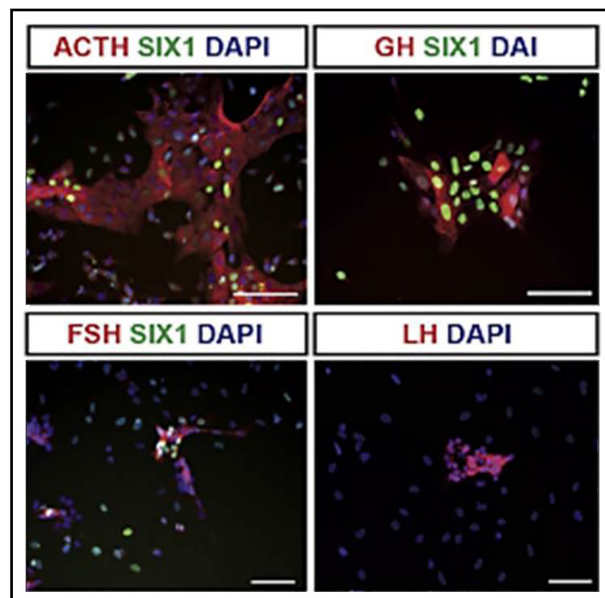


Fig. 2.11 IF: 30 días de diferenciación: células ACTH, GH, FSH y LH (Zimmer y col., 2016).

Fig. 2.12: células diferenciada pituitarias con patrones moleculares: FGF8, FGF8/BMP2 o BMP2 durante 30 días.

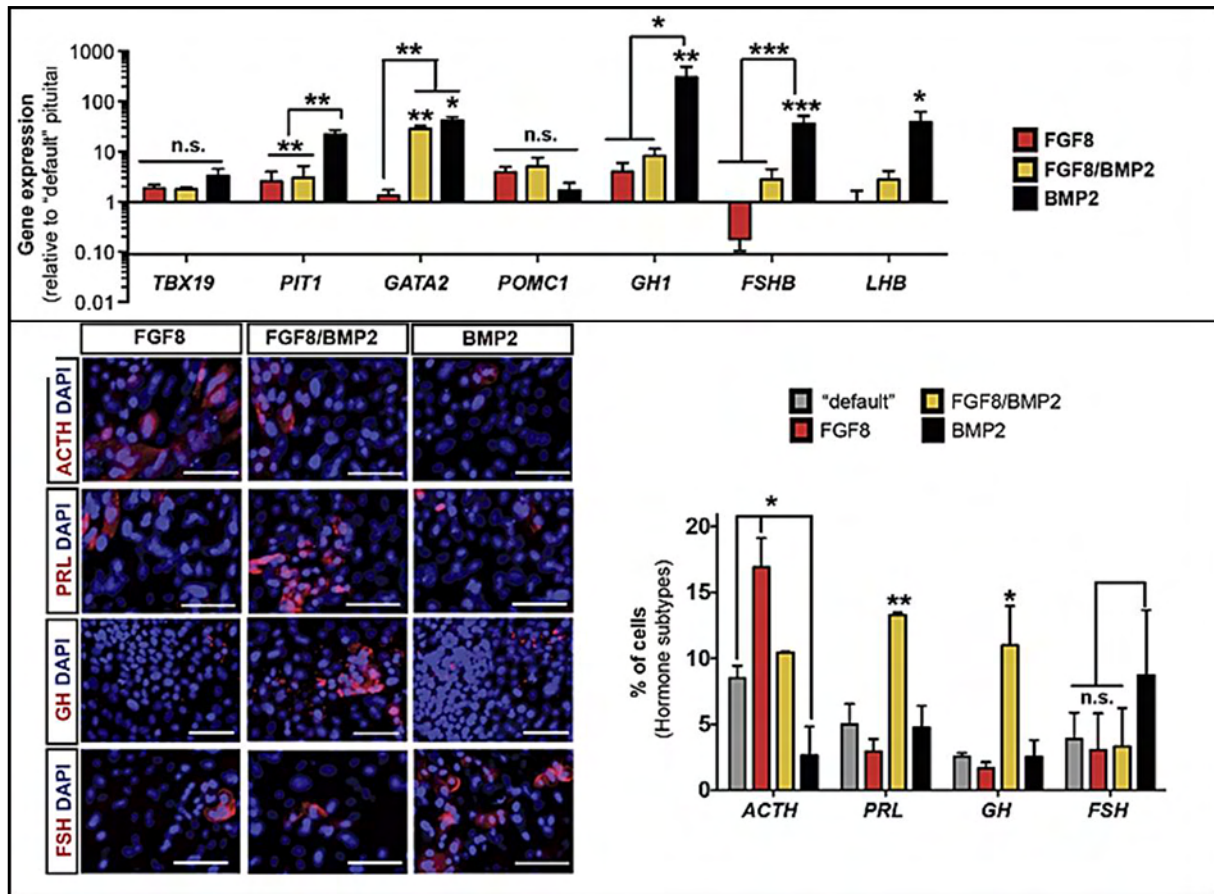


Fig. 2.12 Distribución de las células diferenciadas pituitarias según los patrones moleculares (Zimmer y .ol, 2016).

El patrón con **BMP2** indujo una identidad celular más ventral (**PIT1**, **GATA2**, **GH1**, **FSHB** y **LHB**) y el **FGF8** suprimió los tipos de células ventrales (**FSHB**).

IF: los niveles altos de **FGF8** indujeron el destino dorsal de **ACTH** y los intermedios de **FGF8** y **BMP2** un destino dorsal/ventral (**PRL** y **GH**).

2.6 Señalización Notch en la pituitaria posnatal

La ontogénesis de la glándula pituitaria implica un proceso de desarrollo y diferenciación del linaje celular como resultado de la expresión de factores de transcripción y represores, bajo la acción de varios morfógenos y factores de crecimiento. Los factores de crecimiento fibroblástico (**FGF**), las proteínas morfogenéticas óseas (**BMP**), **Wnts** y **Shh** son de importancia clave. También se ha implicado la señalización de **Notch** en el desarrollo de la hipófisis. Durante la embriogénesis pituitaria, se han detectado varios miembros de la vía **Notch**. **Hes1** se encontró en la zona proliferativa de la hendidura de la bolsa de Rathke, mientras que **Hes6** se detectó en el lóbulo anterior en desarrollo. La zona de la hendidura se considera el sitio desde el cual las células se originan y migran al lóbulo anterior en desarrollo donde se diferencian.

Chen y col. (2006) registraron un patrón de expresión separado de **Hes1** y **Hes6** en la glándula pituitaria postnatal. La vía **Notch** encarna un sistema de señalización que gobierna el destino celular y controla la diferenciación-proliferación de las células indiferenciadas. Se han identificado 4 miembros **Notch** en vertebrados. La unión del ligando desencadena una serie de escisiones proteolíticas que liberan

el dominio intracelular Notch (**NICD**) que se transloca al núcleo donde forma un complejo con **RBP-Jκ**, convirtiéndose en un activador transcripcional que desencadena la expresión de una variedad de genes sensibles a **Notch**. Los genes **Hes** (potenciadores de la división) forman una clase que lo activa. Algunos de estos genes **Hes** (**Hes1** y **Hes5**) reprimen la expresión de factores inductores de diferenciación durante los procesos de neurogénesis, miogénesis y hematopoyesis. Por el contrario, **Hes6** se asocia con la diferenciación. La señalización de **Notch** encamina el destino de la célula emisora a un fenotipo particular diferente del de la célula receptora mediante un proceso conocido como *inhibición lateral*. La expresión del receptor **Notch1** sugiere la señalización **Notch** activada en la hipófisis posnatal y, en especial, en el compartimiento de la población secundaria (**SP**) glandular.

Chen y col. (2009) descubrieron en la pituitaria anterior de ratón adulto una nueva población de células bajas de **Hoechst** que representan una rama lateral en la clasificación de las células activadas por fluorescencia, por lo que se denomina *población secundaria* (**SP**). Las células SP se han identificado en muchos otros tejidos y representan una población enriquecida con **células madre** que sugiere que *el fenotipo SP marca una propiedad universal de las células madre*. En la misma línea, se encontró que el SP de la pituitaria anterior adulta (<1,5% de la población celular total) concentra células que expresan varios marcadores relacionados con células madre en otros tejidos, incluido el antígeno de células madre 1 (**Sca1**), ausente en las células con marcadores fenotípicos de células secretorias diferenciadas.

Raetzman y col. (2004) no observaron expresión de **Notch1** en la hipófisis en desarrollo temprano, mientras que los niveles de expresión de **Notch1** son altos en la SP hipofisaria posnatal, lo que revela una diferencia potencial entre la célula embrionaria progenitora y el fenotipo de la célula SP. Se demostró que la activación de la señalización de **Notch** aumenta la proliferación celular dentro del compartimiento SP y que en varios tejidos la señalización a través de la cascada **Notch** da como resultado la expansión del conjunto de células madre al prevenir la diferenciación. Parece que las células SP, al menos parte de ellas, representan células madre dentro de la glándula posnatal. Con frecuencia se ha propuesto que las células madre existen en la hipófisis y están implicadas en los procesos regenerativos posteriores a la hipofisectomía parcial.

2.7 Rol del receptor Ret

García-Lavandeira y col. (2010) estudiaron el rol del receptor **Ret** y su co-receptor **GFRa1** en la adenohipofisaria expresados en las somatotropas secretoras de GH. **Ret** mantiene los niveles fisiológicos de somatotropas y la producción de GH. Por lo tanto, en ausencia de su ligando **GDNF**, **Ret** induce la apoptosis a través de la expresión masiva de **Pit-1** que conduce a la acumulación de **p53**. En presencia del ligando **GDNF**, **Ret** activa su tirosina quinasa y promueve la supervivencia a expensas de reducir la expresión de **Pit-1** y regular negativamente la GH.

Gremeaux y col. (2012) analizaron el compartimiento de células madre de la hipófisis del ratón durante la primera semana posnatal y en la edad adulta. Las células madre, evaluadas por el fenotipo de la población lateral y la expresión de **Sox2**, son más abundantes al nacer y disminuyen gradualmente en la edad adulta. El compartimiento de células madre es más activo en términos de proliferación, expresión del gen de la célula madre y actividad funcional, incluida la formación de esferas y la capacidad de diferenciación multipotencial. El examen de las secciones de la hipófisis revela arreglos topográficos peculiares de las células **Sox2+**, más pronunciadas en la edad neonatal. Las células **Sox2+** son prominentes en la unión en cuña del lóbulo anterior e intermedio y parecen brotar de la zona marginal del revestimiento de la hendidura. Por lo general, no se observa colocalización de **Sox2** y hormonas.

Las somatotropas son las únicas células pituitarias que expresan **Ret**, **GFRa1** y **GDNF**. Canibano y col. (2007) investigaron los efectos del **Ret** en una línea celular somatotropa, en cultivos de pituitaria primaria y en ratones **Ret KO**. **Ret** regula el número de somatotropas al inducir la sobreexpresión de **Pit-1**, lo que aumenta la expresión de **p53** y la **apoptosis**, que pueden prevenirse con **Ret**. La sobreexpresión de **Pit-1** está mediada por la activación sostenida de **PKCδ**, **JNK**, **c/EBPα** y **CREB** inducida por un complejo de **Ret**, **caspa3** y **PKCδ**. En presencia de **GDNF**, **Akt** se activa y se bloquea la sobreexpresión

de **Pit-1** y la apoptosis resultante. La adenopituitaria de los ratones **Ret KO** es más grande de lo normal y muestra hiperplasia de **Pit-1** y **somatotropa**. También se detectó la activación de la vía **Ret/Pit-1/p53** por la introducción retroviral de **Ret** que bloqueó el crecimiento tumoral *in vivo*. Las somatotropas tienen un mecanismo intrínseco para controlar la producción de **Pit-1/GH** a través de una vía apoptótica, por lo que **Ret** podría ser útil para el tratamiento de los adenomas hipofisarios.

Díaz-Rodríguez y col. (2012) estudiaron la vía **Ret/Pit-1/p53** que desencadena apoptosis en las somatotropas pituitarias. Las somatotropas producen GH y expresan **Pit-1** (factor de transcripción), **Ret** (receptor de dependencia), el correceptor **GFRa1** y el ligando **GDNF**. **Pit-1** es un factor esencial para la proliferación-diferenciación somatotropa y para la expresión de GH. **GDNF** reprime el exceso de expresión de **Pit-1** evitando el exceso de GH. En ausencia de **GDNF**, **Ret** se comporta como un receptor de dependencia, se procesa a nivel intracelular e induce una fuerte expresión de **Pit-1** que conduce a la acumulación de **p53** y a la apoptosis. Existe una correlación paralela entre el procesamiento de **Ret**, el aumento de **Pit-1** y la expresión de proteína **ARF** y **ARNm**. Al interferir la vía con **Ret**, **Pit-1** o **p19Arf** se bloquea la apoptosis. **Pit-1** regula directamente el locus **CDKN2A** y se une al promotor **p19Arft** que induce la expresión del gen **p19Arf**. **Ret/Pit-1** activa **p19Arf/p53** y la apoptosis no solo en una línea celular somatotropa sino también en cultivos primarios, donde la interferencia **ARF** también bloquea **p53** y la apoptosis. El **Pit-1**, un factor de diferenciación, activa la vía de la apoptosis inducida por oncogenes (**OIA**) que ejercen un control estricto en las somatotropas para prevenir la enfermedad por exceso de GH (resistencia a la insulina, enfermedad metabólica, acromegalia).

2.8 Células madre: respuesta a la injuria con regeneración

Fu y col. (2012) estudiaron la capacidad regenerativa de la pituitaria adulta y la respuesta del compartimiento de células madre. Para ello, construyeron un modelo de ratón transgénico que destruye las células pituitarias. Los ratones **GHC*re*/iDTR** expresan el receptor de la toxina diftérica (**DT**) después de la activación transcripcional por la recombinasa **Cre**, que es impulsada por el promotor GH. El tratamiento con **DT** durante 3 días conduce a la anulación de las somatotropas con un grado de ablación final de 80 a 90% después de 1 semana. La población secundaria de células madre se expande después de la lesión con un aumento inmediato de células madre **Sox2⁺**. Además, las células foliculo-estelares, previamente designadas como células madre/progenitoras pituitarias, también aumentan. El examen *in situ* revela la expansión del nicho de la zona marginal de **Sox⁺** y la aparición de células **Sox2⁺** que contienen GH. Cuando quedan ratones después de la lesión provocada por **DT**, las somatotropas se regeneran durante los meses siguientes. Se observan células **Sox2⁺/GH**. En conclusión, el estudio demostró que la glándula pituitaria adulta tiene competencia regenerativa y que la reparación tisular sigue a la activación inmediata de las células madre.

Vankelecom y col. (2014) buscaron nuevos modelos de investigación que apoyan su participación en la regeneración celular después de una lesión en la glándula y sugieren un posible papel en la formación de tumores hipofisarios. Sus estudios confirmaron que las células madre hipofisarias parecen reutilizar los programas de desarrollo embrionario durante la creación de nuevas células diferenciadas secretoras de hormonas. La hipófisis adulta es capaz de regenerar es capaz de regenerar somatotropas y lactotropas sometidas a ablación transgénica.

Se estableció un modelo de ratón transgénico **PRL*Cre*/receptor** de toxina diftérica inducible (**iDTR**), en el que el promotor **PRL** impulsa la expresión de **Cre** que induce **DTR** en lactotropas. La inyección de **DT** a ratones hembra durante diferentes períodos provocó una ablación gradual de las células **PRL+**, alcanzando el 70% después del tratamiento con **DT** durante 10 días. Durante las siguientes semanas, las lactotropas reaparecen progresivamente logrando una restauración del 60% a las 6 semanas. El compartimiento de células madre **Sox2⁺** mostró una reacción rápida a la lesión por ablación celular desencadenada por **DT**, incluida la expansión del nicho de la zona marginal y la coexpresión de **PRL**, esta última rara vez observada en la pituitaria de control. Durante todo el período de regeneración (2-6 semanas), las células **Sox2⁺** así como las células **Sox2⁺/PRL+** dobles continúan siendo más abundantes que en la

pituitaria de control. Además de esta reacción de las células madre, las lactotropas supervivientes o recién nacidas aumentan su actividad proliferativa y las células **PRL+/GH+** bihormonales se vuelven detectables, lo que sugiere una transdiferenciación de somatotropa a lactropa (Fu y col, 2012).

2.9 Células madre y apoptosis

La apoptosis hipofisaria: ¿se produce en toda la glándula al azar o en una capa concreta? Se trata de un proceso difícil de captar en las secciones de parafina. Se usa la técnica del TUNEL que marca la fragmentación del ADN. Para hablar de apoptosis debemos volver al receptor **Ret de dependencia** expresado en la mayoría de las somatotropas. Dicho receptor se porcesa dentro de la célula y desencadena una vía apoptótica. La vía **Ret/Pit-1/Arf/p53/apoptosis** no solo se demostró en experimentos de líneas celulares o cultivos primarios, sino que se vio en modelos *in vivo*. El ligando **GDNF** previene el procesamiento intracelular de **Ret**, lo dimeriza y lo activa induciendo su actividad tirosina quinasa y activando enzimas. Una de las enzimas activadas por **GDNF/Ret** es **Akt**, que reprime el gen de **Pit-1**, manteniendo su expresión en la célula somatotropa en niveles compatibles con la vida. En la hipófisis normal hay un pequeño pero constante número de células somatotropas que están muriendo por apoptosis al fallarles **GDNF**, o bien en respuesta al mismo.

Se halló **Ret** expresado en algunas lactotropas de la hipófisis normal. Durante la gestación o la lactancia hay pocas células **Ret+** que coincidan con **caspara 3** activada (marcador de apoptosis). Sin embargo, cuando se suprime la lactancia aumenta el número de células dobles positivas **Ret/caspara 3** activada. Se interpretó que seguían la vía **Ret/Pit-1/apoptosis** por lo que consideraron que también existe en las lactotropas y modularía el número de células durante la lactancia. Así, una vía inactiva permitiría la supervivencia de las lactotropas mientras fueran necesarias, pero se activaría al final de la lactancia, disparando la apoptosis de lactotropas.

En resumen, el vía **Ret/Pit-1/Arf/p53 apoptosis** en células diferenciadas somatotropas y lactotropas equilibra la función secretora con control del número de células. A su vez, conecta con el nicho de células, ya que **Ret** se expresa tanto en células madre como en las células diferenciadas secretoras.

2.10 Potencial neoplásico de las células folículo-estelares

Horvath y col. (2010) observaron dos neoplasias selares con una misma organización citoplasmática simple con predominio de polirribosomas y su marcación mostró:

- a. Una red de folículos hipofisarios típicos.
 - b. Similitud inesperada con el tejido pituitario fetal humano en diferentes edades gestacionales.
- La supuesta célula madre folículo-estelar como célula madre adulta pluripotente fue desmentida en estudios posteriores.

2.11 Nestina en la hipófisis normal y en los tumores pituitarios

Rotondo y col. (2006) investigaron si la **nestina**, un miembro de la familia de los filamentos intermedios, se expresa en la IHQ de la hipófisis humana no tumoral y en las neoplasias pituitarias. En varias corticotropas se mostró positividad a la **nestina**, pero no se inmunomarcó en otras células no tumorales y en adenomas pituitarios. La **nestina** se expresa en una pequeña proporción de células endoteliales en los lóbulos anterior y posterior. También se observó tinción en varios pituicitos y fibras nerviosas neurohipofisarias. La expresión de **Nestina** en los adenomas no puede verse como un marcador relevante de la proliferación celular o como un indicador de pronóstico.

2.12 Potencial de las células madre para inducir tumores hipofisarios

Andoniadou y col. (2012), utilizando el rastreo del linaje genético, demostraron que el compartimiento celular **Sox2⁺** de la hipófisis embrionaria y adulta contiene células madre que pueden diferenciarse en todos los linajes productores de hormonas y contribuir a la homeostasis de los órganos durante la vida posnatal. Además, mostraron que la expresión dirigida de la β -**catenina** oncogénica en las células **Sox2⁺** da lugar a tumores pituitarios, pero, inesperadamente, la masa tumoral no se deriva de las **Sox2⁺** portadoras de mutaciones, lo que sugiere un papel paracrino de las células **Sox2⁺** en la oncogénesis pituitaria. Por lo tanto, los datos proporcionan evidencia *in vivo* del papel de las células madre **Sox2⁺** en el mantenimiento fisiológico a largo plazo de la pituitaria adulta y destacan un papel inesperado no autónomo de estas células en la inducción de tumores pituitarios.

2.13 Adenomas hipofisarios: ¿fallo de los mecanismos apoptóticos?

Los adenomas hipofisarios son tumores benignos y no se espera que tengan *células madre de tipo canceroso* (CSC, del inglés *cancer-stem cells*). Sin embargo, algunos tumores podrían derivarse de células madre reclutadas del nicho. De hecho, se han descrito casos de acromegalia donde los tumores coexpresan todas las hormonas de la hipófisis. Otros adenomas podrían originarse en células secretoras diferenciadas que se resistiesen a la apoptosis, haciéndose inmortales. Xu y col (2009) propusieron CSC en tumores hipofisarios. Se cultivaron células de un somatotropinoma y de un no funcionante en condiciones de células madre. Con los días, las células crecen como esferas que tiñen para **Nestina** y **CD133**. Se observó expresión de **OCT4** en las esferas, pero no estudiaron ninguno de los otros marcadores posibles (**Sox2**, **Sox9**, **GFRA2**). Luego de amplificar las células en varios pases, inmortalidad característica de células madre, inyectan las esferas en el cerebro de ratones desnudos y observan que forman tumores con GH+. Estos datos son sugerentes, pero al no utilizar células purificadas y al tener una escasa caracterización de las esferas cultivadas, pone en duda si las células proliferantes son células mesenquimales con marcadores *stem*, contaminadas con algunas células secretoras del adenoma. También se ha comunicado el aumento de expresión de ARN del marcador **GPS GFRA2** en adenomas hipofisarios en comparación con la hipófisis normal, sugiriendo la presencia de células reclutadas del nicho.

La apoptosis aumenta casi cinco veces en la hipófisis de embarazadas y unas 15 veces en carcinomas hipofisarios. Estos datos se contradicen con lo publicado, donde se encuentra una mayor apoptosis en adenomas secretores comparados con los no funcionantes. Las técnicas usadas permiten solo sugerir la ausencia de apoptosis en adenomas hipofisarios. Aún no se sabe si los adenomas se originan a partir de células madre o de células diferenciadas que son resistentes a la apoptosis.

2.14 Rol de las células madre en los craneofaringiomas

Andoniadou y col. (2012) estudiaron el rol de las células madre en los craneofaringiomas. Las células madre/progenitoras pituitarias se han caracterizado por expresar **GFRA2/Ret**, **Prop1** y marcadores de células madre como **Sox2** y **Oct4** (células GPS).

García-Lavandeira y col. (2012) detectaron células madre normales GPS localizadas en la zona marginal (MZ) con 3 marcadores clave: **Sox2**, **Oct4**, **Klf4**, además de **Sox9** y **Prop1** con sobreexpresión de β -**catenina**. Además, expresaron el receptor **Ret** y su correceptor **GFRA2**, pero también el correceptor **GFRA3** que podría detectarse en la MZ de las secciones de parafina de la hipófisis. Los craneofaringiomas mantuvieron la expresión de **Sox2**, **Oct4**, **KLF4**, **Sox9** y β -**catenina**. Sin embargo, la expresión de **Ret** y **GFRA3** se alteró en los craneofaringiomas. Las células madre adultas (GPS) de la hipófisis humana, ubicadas en la zona intermedia, se caracterizan por la expresión de los marcadores de células madre embrionarias: **Sox2**, **Oct4** y **Klf4**, más el factor embrionario hipofisario específico **Prop1** y el sistema **Ret**. Los craneofaringiomas comparten los marcadores de células madre que sugieren un origen común

con **GPS**. Sin embargo, la falta de expresión del sistema **Ret/GFRA** podría estar relacionado con la mala ubicación celular y el crecimiento desregulado del tumor.

Se sabe que la señalización de Hedgehog (**Shh**) es esencial durante el desarrollo embrionario de la glándula pituitaria, pero el conocimiento sobre su función en la pituitaria adulta y en los tumores es escaso. Pyczek y col. (2016) investigaron el efecto del exceso de activación de **Shh** en explantes pituitarios murinos y analizaron el estado de señalización de los lóbulos adenopituitarios humanos y una gran cohorte de adenomas hipofisarios. Se demostró que el exceso de señalización de **Shh** condujo a una mayor proliferación de células **Sox2⁺** y **Sox9⁺** y niveles elevados de expresión de ACTH, GH, y PRL en la glándula adulta. La inhibición de la vía por la ciclopamina invirtió estos efectos, lo que indica que la señalización activa de **Shh** regula los procesos proliferativos de las células madre de la hipófisis adulta y la producción de hormonas en la hipófisis anterior (Pyczek y col. 2016).

Referencias

- Andoniadou CL et al. Identification of novel pathways involved in the pathogenesis of human adamantinomatous craniopharyngioma. *Acta Neuropathol* 124:259-271, 2012.
- Andoniadou CL et al. Las células madre/progenitoras Sox2 (+) en la pituitaria del ratón adulto apoyan la homeostasis del órgano y tienen potencial para inducir tumores. *Cell Stem Cell* 13:433-445, 2013.
- Canibano C et al. The dependence receptor Ret induces apoptosis in somatotrophs through a Pit-1/p53 pathway, preventing tumor growth. *EMBO J* 26:2015-2028, 2007.
- Chen J et al. Pituitary progenitor cells tracked down by side population dissection. *Stem Cells* 27:1182-1195, 2009.
- Chen J et al. The notch signaling system is present in the postnatal pituitary: marked expression and regulatory activity in the newly discovered side population. *Mol Endocrinol* 20:3293-3307, 2006.
- Cox B et al. Regulación de las células madre de la hipófisis: ¿Quién mueve los hilos? *J Endocrinology* 234:135-158, 2017.
- Díaz-Rodríguez E et al. Direct promoter induction of p19Arf by Pit-1 explains the dependence receptor RET/Pit-1/p53-induced apoptosis in the pituitary somatotroph cells. *Oncogene* 31:2824-2835, 2012.
- Dincer Z et al. Specification of functional cranial placode derivatives from human pluripotent stem cells. *Cell Rep* 5:1387-1402, 2013.
- Fauquier T et al. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:2907-2912, 2008.
- Florio T. Recent evidence of putative human pituitary adenoma tumor stem cells. 4th European Neuroendocrine Association Congress, 2010.
- Fu Q et al. The adult pituitary shows stem/progenitor cell activation in response to injury and is capable of regeneration. *Endocrinology* 153:3224-3235, 2012.
- Fu Q et al. The adult pituitary shows stem/progenitor cell activation in response to injury and is capable of regeneration. *Endocrinology* 153:3224-3235, 2012.
- Fu Q, Vankelecom H. Regenerative capacity of the adult pituitary: multiple mechanisms of lactotrope restoration after transgenic ablation. *Stem Cells Dev* 21:3245-3257, 2012.
- García-Lavandeira M et al. A GRFa2/Prop1/stem (GPS) cell niche in the pituitary. *PLoS ONE* 4:e4815, 2009.
- García-Lavandeira M et al. Craniopharyngiomas express embryonic stem cell markers (SOX2, OCT4, KLF4, and SOX9) as pituitary stem cells but do not coexpress RET/GFRA3 receptors. *J Clin Endocrinol Metab* 97:E80-7, 2012.
- García-Lavandeira M et al. Functional role of the RET dependence receptor, GFRA co-receptors and ligands in the pituitary. *Front Horm Res* 38:127-138, 2010.
- Gleiberman AS et al. Genetic approaches identify adult pituitary stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:6332-6337, 2008.
- Gremeaux L et al. Activated phenotype of the pituitary stem/progenitor cell compartment during the early-postnatal maturation phase of the gland. *Stem Cells Dev*
- Horvath E et al. Folliculo-stellate cells of the human pituitary as adult stem cells: examples of their neoplastic potential. *Ultrastruct Pathol* 34:133-139, 2010.
- Lepore DA et al. Survival and differentiation of pituitary colony-forming cells in vivo. *Stem Cells* 25:1730-1736, 2007.
- Li H et al. p27(Kip1) directly represses Sox2 during embryonic stem cell differentiation. *Cell Stem Cell* 11:845-852, 2012.
- Mendez-Ferrer S et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 466:829-834, 2010.
- Perez-Millan MI et al. Enhanced nestin expression and small blood vessels in human pituitary adenomas. *Pituitary* 16:303-310, 2013.
- Pimentel-Parra GA, Murcia-Ordoñez B. Células madre, una nueva alternativa médica. *Perinato Reprod Hum* 31(1): 28-33, 2017.

- Raetzman LT et al. Developmental regulation of Notch signaling genes in the embryonic pituitary: Prop1 deficiency affects Notch2 expression. *Dev Biol* 265:329, 2004.
- Rotondo F et al. Immunohistochemical expression of nestin in the non-tumorous hypophysis and in pituitary neoplasms. *Acta Neuropathol* 111:272-277, 2006.
- Russell JP et al. Avances en la investigación básica sobre la función y regulación de las células madre hipofisarias. *Neuroendocrinología* 107:196-203, 2018
- Russell JP et al. Avances en la investigación básica sobre la función y regulación de las células madre hipofisarias. *Neuroendocrinología* 107:196-203, 2018.
- Vankelecom H, Chen J. Células madre de la hipófisis: ¿dónde nos encontramos? *Endocrinol Cel Mol* 385(1-2):2-17, 2014.
- Vankelecom H, Gremeaux L. Stem cells in the pituitary gland: A burgeoning field. *Gen Comp Endocrinol* 166:478-488, 2010.
- Zhu X et al. MG. Molecular physiology of pituitary development: signaling and transcriptional networks. *Physiol Rev* 87:933-963, 2007.
- Zimmer B et al. Derivación de diversas células pituitarias liberadoras de hormonas a partir de células madre pluripotentes humanas. *Informes de células madre*. 6 (6): 858-872, 2016.

CAPÍTULO 3

MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA HIPOFISARIA

3.1 Componentes del sistema endocrino (cuadro 3.1):

Cuadro 3.1: Sistema endocrino	Histogénesis	Estructuras
Hipotálamo	Neuroectodermo	Núcleos supraóptico y paraventricular
Hipófisis (pituitaria)	Adenohipófisis → Ectodermo: Bolsa de Rathke	→ <i>Pars distalis</i>
		→ <i>Pars intermedia</i>
		→ <i>Pars tuberalis</i>
Epífisis (pineal)	Neuroectodermo	Diencefalo
Suprarrenales	Mesodermo: corteza	Ectodermo: médula
Tiroides	Endodermo	Folículos tiroideos
Paratiroides	Endodermo	Superiores e inferiores
Páncreas endocrino	Endodermo	Islotes de Langerhans
Ovarios. Testículos	Mesodermo intermedio	Folículos. Túbulos
Riñones	Mesodermo intermedio	Conectivo intersticial
Timo	Endodermo	Corteza. Médula
Placenta	Corion	Decidua

3.2 Eje hipotálamo-hipofisario-órgano blanco (fig. 3.1)

- **Nivel hipotalámico:** el hipotálamo es una parte del sistema nervioso central (SNC) y está constituido por varios núcleos, cuyas células sintetizan y secretan distintos *péptidos estimuladores o inhibidores de la hipófisis*. Constituye un puente vital entre el SNC y el sistema endocrino. Regula la *actividad endocrina* de las glándulas periféricas (hipófisis, suprarrenales, tiroides, paratiroides y gónadas) y controla *crecimiento, metabolismo, reproducción, nutrición, lactancia, equilibrio hidrosalino, temperatura corporal y apetito*.

En el hipotálamo se secretan **neurotransmisores y hormonas** que pueden ser *efectores* o *inhibidores*. **Neurotransmisores:** *dopamina, adrenalina, noradrenalina, serotonina, ácido yaminobutírico (γGABA), histamina, opiáceos y péptidos*. Las hormonas efectoras **oxitocina** y **antidiurética (HAD)** o **vasopresina** son producidas por el sistema magnocelular a nivel de los *núcleos supraóptico y paraventricular*.

Las **hormonas** reguladoras son sintetizadas en el sistema parvocelular, cuyas neuronas se encuentran distribuidas en distintos núcleos y áreas del hipotálamo. Sus axones forman el *haz túberoinfundibular*

que termina en la una red de capilares de la eminencia media, donde se liberan de manera intermitente factores hipotalámicos estimuladores e inhibidores.

Las **hormonas hipofisotrópicas hipotalámicas (HHH)** son transportadas por el **sistema porta** hipotálamo-hipofisario hasta la adenohipófisis donde se encuentran sus células diana. Las **HHH** comprenden: hormona inhibidora de la secreción de GH o somatostatina (**GHI**), hormona estimulante de la secreción de GH (**GHRH**), hormona inhibidora de la secreción de PRL (**PIH**), hormona liberadora de la secreción de PRL (**PRH**), hormona estimulante de la secreción de TSH (**TRH**), hormona estimulante de la secreción de gonadotrofinas: LH y FSH (**GnRH**) y hormona estimulante de la secreción de ACTH (**CRH**). Se han descrito *mecanismos de retroalimentación* hipotálamo-hipofisarios que permiten la regulación del eje.

- **Nivel hipofisario:** la **adenohipófisis** sintetiza y libera a la circulación sanguínea seis hormonas hipofisarias (**HH**): *hormona de crecimiento o somatotrofina (GH o STH)*, *prolactina (PRL)*, *corticotrofina (ACTH)*, *tirotrófina (TSH)*, *foliculo-estimulante (FSH)* y *luteinizante (LH)*, todas ellas de naturaleza peptídica. La regulación de su secreción se encuentra determinada en buena medida por el propio hipotálamo.

Por su parte, la neurohipófisis almacena y libera las hormonas *oxitocina* y *ADH*, provenientes del hipotálamo → *neurocrinia*.

- **Nivel de órgano blanco:** las hormonas de la hipófisis tiene uno o más blancos localizados en otras glándulas endocrinas periféricas y tejidos hormodependientes. Un *sistema de retroalimentación* regula la función endocrina en los diferentes niveles: liberación de las hormonas hipotalámicas, hipofisarias, y de órganos blanco. La concentración de hormona circulante producida en un órgano diana puede actuar directamente sobre las células adenohipofisarias o hipotalámicas para regular su secreción.

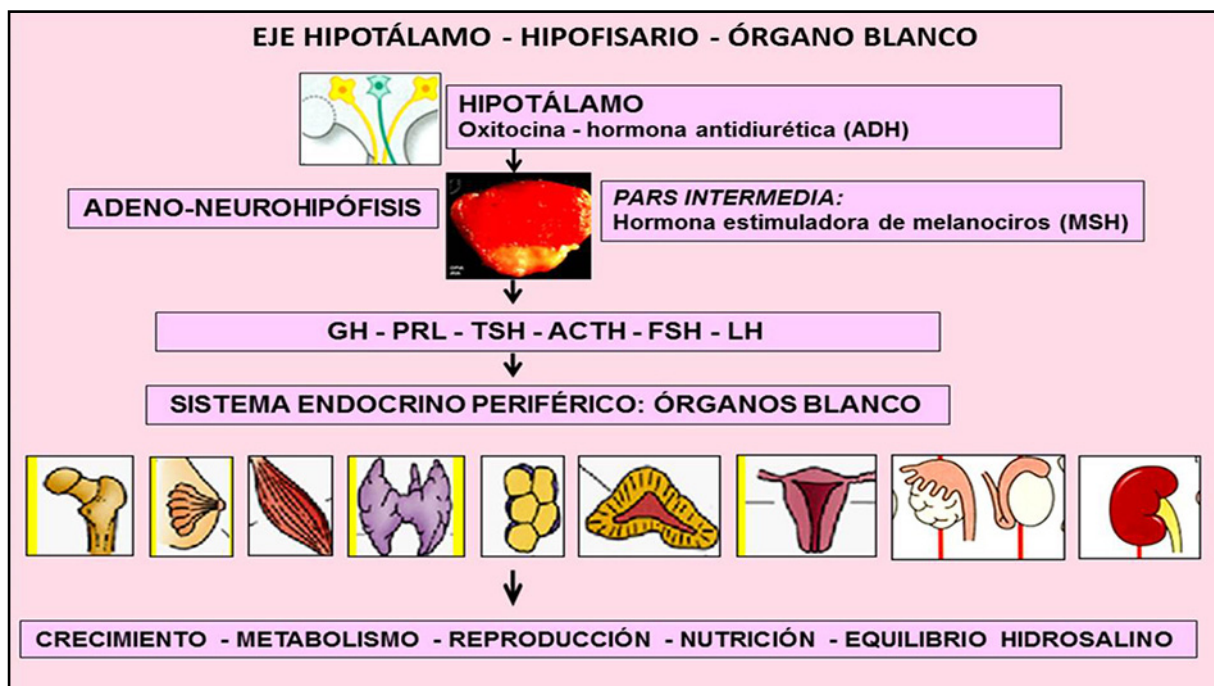


Fig. 3.1 Eje hipotálamo-hipofisario-órgano blanco. (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

3.3 Anatomía de la hipófisis (pituitaria)

La hipófisis cumple una *función integradora neuroendocrina* a la manera de una *directora de orquesta* endocrina y regula las glándulas endocrinas periféricas y los tejidos blanco hormono-dependientes, actuando sobre: crecimiento, metabolismo, reproducción, nutrición y equilibrio hidrosalino. La glándula pituitaria reci-

bió dicho nombre por su conexión con la región nasofaríngea. Los griegos creyeron que las flemas del cerebro que salían por la nariz provenían de la pituitaria (**fig. 3.2**).

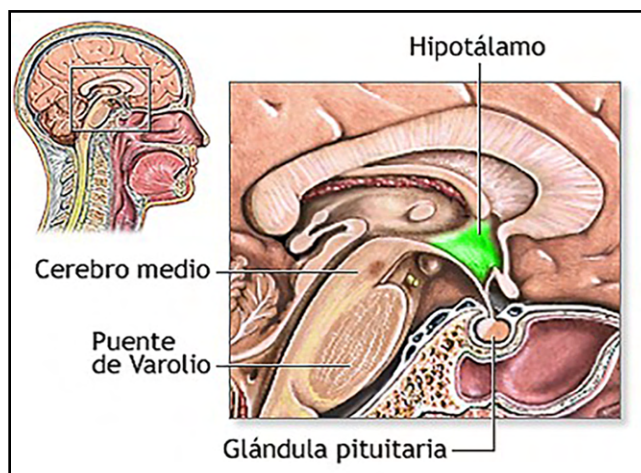


Fig. 3.2 Glándula pituitaria (nml.nih.gov/medlineplus/Spanish).

La hipófisis está localizada en la zona central de la base del cerebro, en una concavidad del hueso esfenoides denominada **silla turca**. Está revestida por la duramadre que le forma una cápsula en la porción intraselar y una cubierta superior o **diafragma selar** por donde transcurre el **tallo infundibular** que la une al cerebro.

En el humano, mide unos 13 mm en sentido transversal, 9 mm en su diámetro anteroposterior y 6-9 mm de alto. Pesa 500 a 900 mg en el adulto, con incremento en los periodos de gestación/lactancia y durante los procesos patológicos (hiperplasia/tumores).

En la **fig. 3.3** se presenta la *fosa hipofisaria* o *silla turca* del esfenoides.

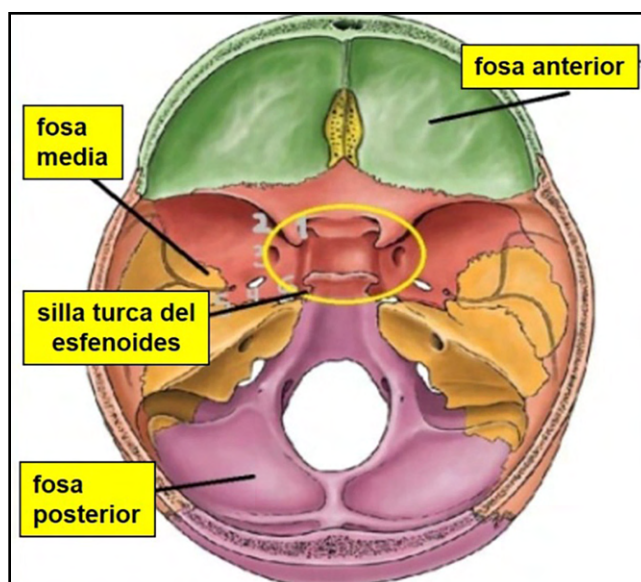


Fig. 3.3 Silla turca en el hueso esfenoides (slideshare).

Silla turca: hipófisis intraselar: presenta los *lóbulos anterior, intermedio y posterior*. La **hipófisis supraselar** contiene el tallo hipofisario: tallo infundibular y *pars tuberalis*.

Relaciones de la fosa hipofisaria:

- *Inferior:* senos esfenoidales y techo de rinofaringe.
- *Anterior:* parte superior del seno esfenoidal, canal óptico y duramadre con el plexo venoso subpituitario.

- *Posterior*: fosa cerebral posterior ocupada por la protuberancia anular.
- *Superiores*: diafragma selar, tallo hipofisario y quiasma óptico.
- *Caras laterales*: senos cavernosos con carótida interna.

3.4 Regiones hipofisarias (figs. 3.4-3.5 AB)

1. Adenohipófisis.

- Lóbulo anterior o *pars distalis* (PD).
- Lóbulo intermedio o *pars intermedia* (PI).
- Lóbulo infundibular-tuberal o *pars tuberalis* (PT).

2. Neurohipófisis.

- Eminencia media (EM).
- Tallo infundibular (TI).
- Lóbulo posterior o *pars neural* (PN).

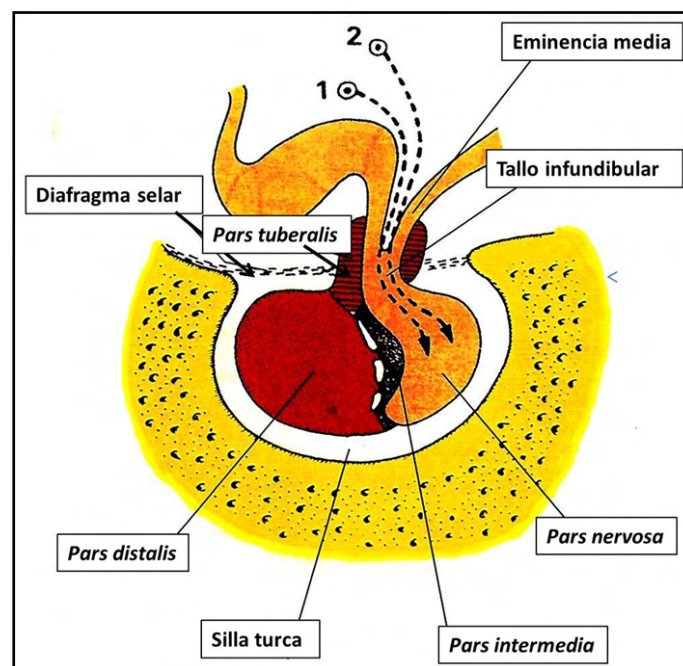


Fig. 3.4 Regiones hipofisarias (Embriología Humana, Gómez Dumm CLA y col., 2003).

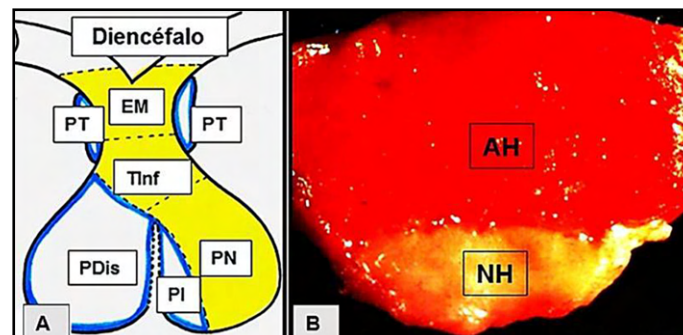


Fig. 3.5 A-B. Regiones hipofisarias. A. PDis: *pars distalis*, PI: *pars intermedia*, PN: *pars neural*, PT: *pars tuberalis*, Tlnf: tallo infundibular, EM: eminencia media. B. AH: adenohipófisis y NH: neurohipófisis. (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

La *neurohipófisis* libera *hormona antidiurética* y *oxitocina*, secretadas a nivel de los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular.

- **Histología de las regiones hipofisarias: *pars distalis*, *pars neural* y *pars intermedia* (fig. 3.6).**

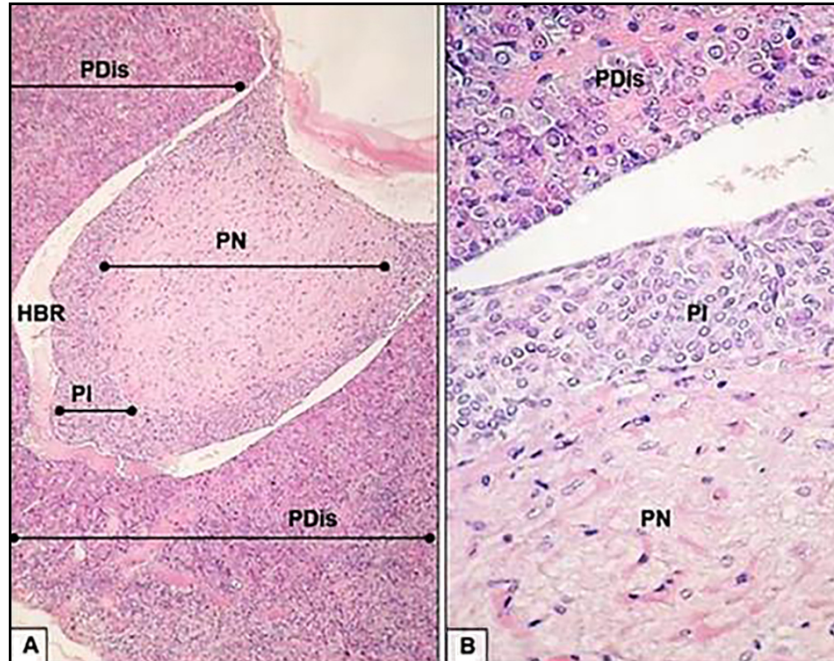


Fig. 3.6 Regiones hipofisarias: PDIs: *pars distalis*, PI: *pars intermedia*, PN: *pars neural*, HBR: hendidura bolsa de Rathke. (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole, 2017).

3.5 Poblaciones hipofisarias

A. Adenohipófisis:

3.5.1 *Pars distalis*: las células cromófilas (basófilas y acidófilas) y las células cromófobas se ven en la fig. 3.7. Se disponen en *nidos* o *cordones* entre una rica red de capilares.

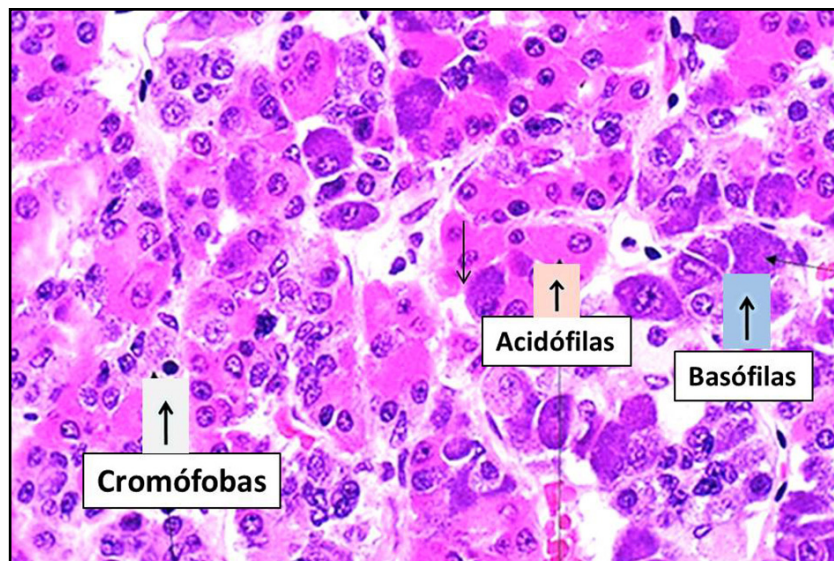


Fig. 3.7 Adenohipófisis: células acidófilas, basófilas y cromófobas (web).

1. Población somatotropa.

a) **Microscopía de luz:** sus células son las más voluminosas (12-16 μm) y presentan forma ovoidea. Constituyen la población más numerosa: 50% en machos y 30% en hembras. Secretan *hormona de crecimiento (GH)*, proteína de PM 21.500 Da. Su localización es difusa, de modo que el muestreo al azar resulta representativo. Presentan núcleos redondeados y citoplasma acidófilo (**fig. 3.8**). Con orange G se ven anaranjadas.

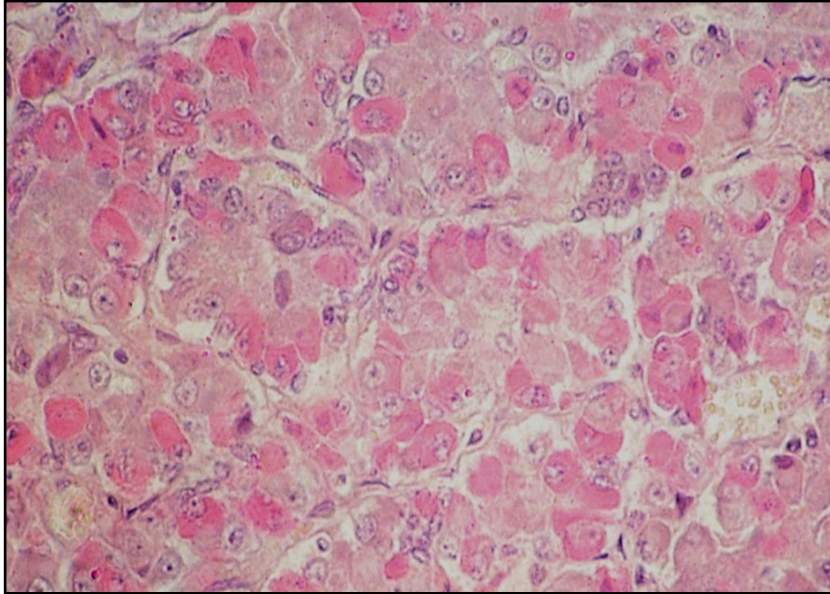


Fig. 3.8 Pars distalis. Células somatotropas: acidófilas (H-E x 400). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

b) **Técnicas inmunohistoquímicas (IHQ):** somatotropas con patrón citoplasmático granular difuso ocre con diaminobencidina (DAB) y reacción (GH) - anti-GH (**fig. 3.9**).

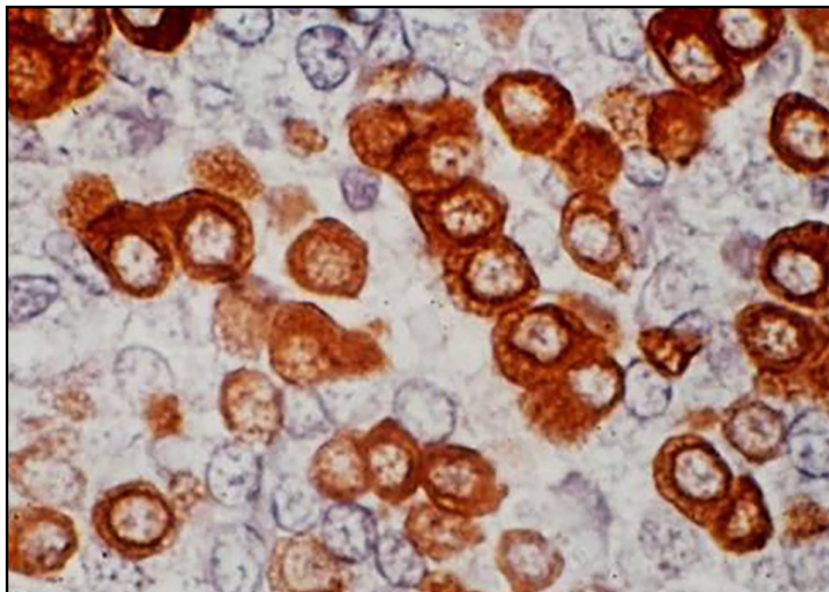


Fig. 3.9 Células GH positivas (EnVision peroxidasa, anti-GH x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

2. Población lactotropa.

a) **Microscopía de luz:** se detecta un 40% de lactotropas en hembras y un 20% en machos. Las células son pequeñas (diámetro 12-14 μm), de forma poligonal alargada y presentan cortas prolongaciones. La distribución es difusa, aunque predominan en las regiones póstero-laterales de la *pars distalis*. Secretan *prolactina* (PRL), una proteína de PM 23.500 Da. Tienen citoplasma con gránulos secretorios y sus núcleos son centrales y contienen un nucléolo voluminoso. Con H-E se ven acidófilas y con orange-G se tiñen de color naranja como las somatotropas (**fig. 3.10**).

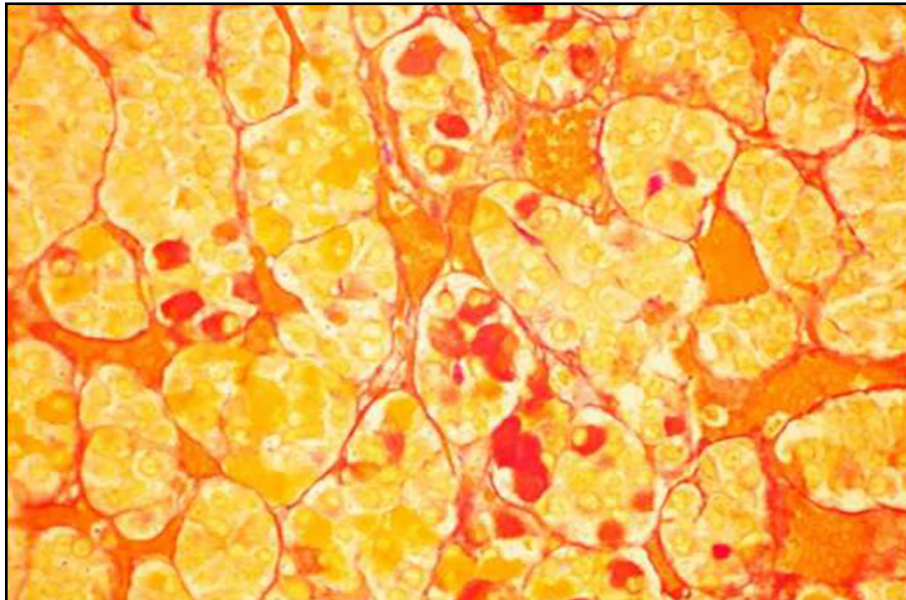


Fig. 3.10 Células lactotropas orangiófilas (PAS-Orange x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** las células lactotropas muestran un patrón granular citoplasmático ocre con (PRL) - (anti-PRL). (**fig. 3.11**).

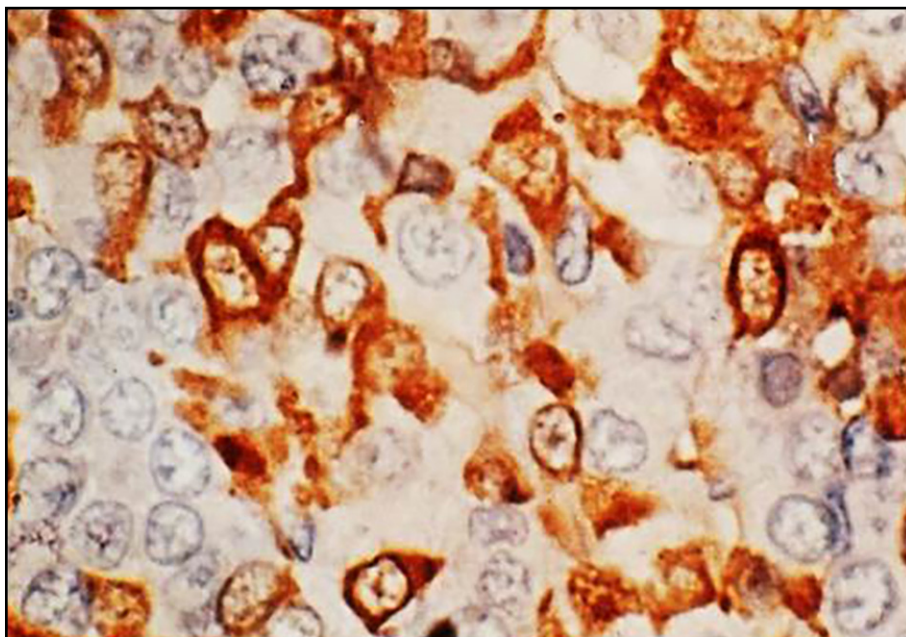


Fig. 3.11 Células PRL positivas (EnVision peroxidasa, anti-PRL x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

3. Población folículo­tropa.

a) **Microscopía de luz:** junto con la población luteinizante constituyen 10% de la población. Secretan *hormona folículo-estimulante (FSH)*, glicoproteína de PM 31.500 Da. Son esféricas, diámetro promedio: 15 μm , núcleo redondeado y excéntrico. Se distribuyen en grupos irregulares en toda la *pars distalis*, con tendencia a la localización periférica ventral. Basófilas con H-E, PAS+, azul alciano+, tetracromo de Herlant: azul claro.

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** células redondeadas con cierto grado de vacuolización citoplasmática y núcleos esféricos. Unión del antígeno (FSH) - (anti-FSH) (**fig. 3.12**).

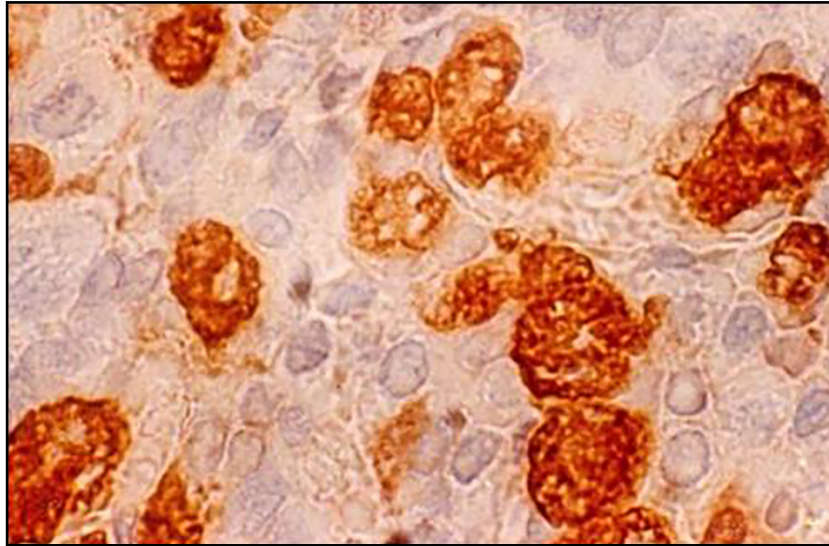


Fig. 3.12 Células FSH positivas (EnVision peroxidasa, anti-FSH x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017)

4. Población luteinizante.

a) **Microscopía de luz:** representan un 10% con las folículo­troas. Secretan *hormona luteinizante (LH)*, glicoproteína de PM 30.000 Da. Tienen distribución irregular. Tienen aspecto vacuolar. Tamaño: 9 μm . Basófilas con H-E; azul alciano+, PAS+, Herlant: púrpura.

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** son células redondeadas con cierto grado de vacuolización citoplasmática. La reacción es (LH) y (anti- fracción β de LH) (**fig. 3.13**).

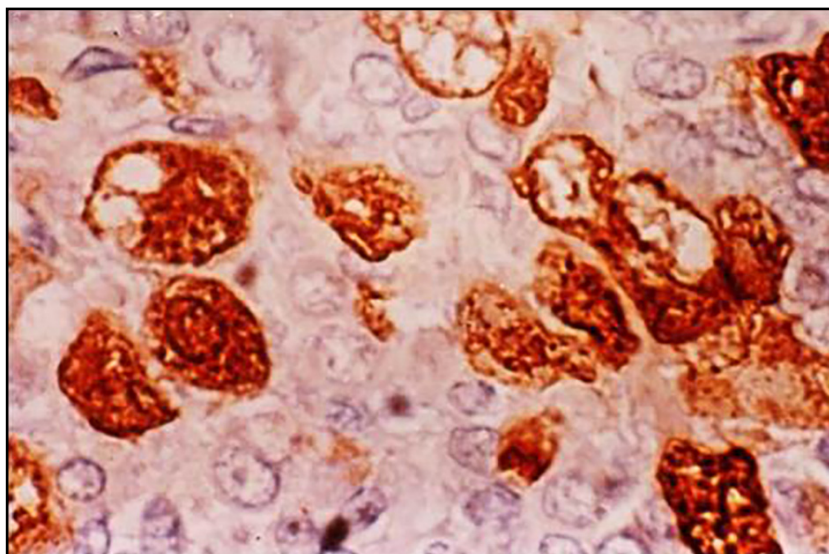


Fig. 3.13 Células LH positivas (EnVision peroxidasa, anti-LH x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

5. Población tirotrópica.

a) **Microscopía de luz:** constituyen la población menos numerosa (< 5% del total) y secretan *tirotrófina* (TSH), una glicoproteína de PM 28.000 Da. Miden 10 μm y se localizan principalmente en la zona ventro-medial de la *pars distalis*. Son poligonales y presentan núcleos esféricos. Con H-E aparecen basófilas. Azul alciano+ y PAS+, con aldehído-fucsina dan tinción violeta y con tetracromo de Herlant se tiñen de azul intenso (fig. 3.14).

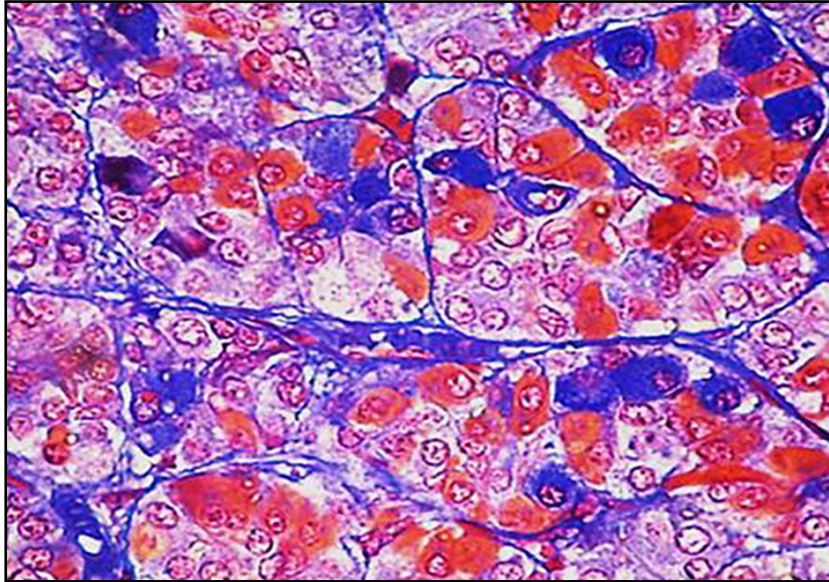


Fig. 3.14 Células tirotrópicas (tetracómico de Herlant: azul intenso, x 800). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** células angulares poligonales. Patrón citoplasmático difuso muestran especificidad: antígeno (TSH) - (anti-TSH) (fig. 3.15).

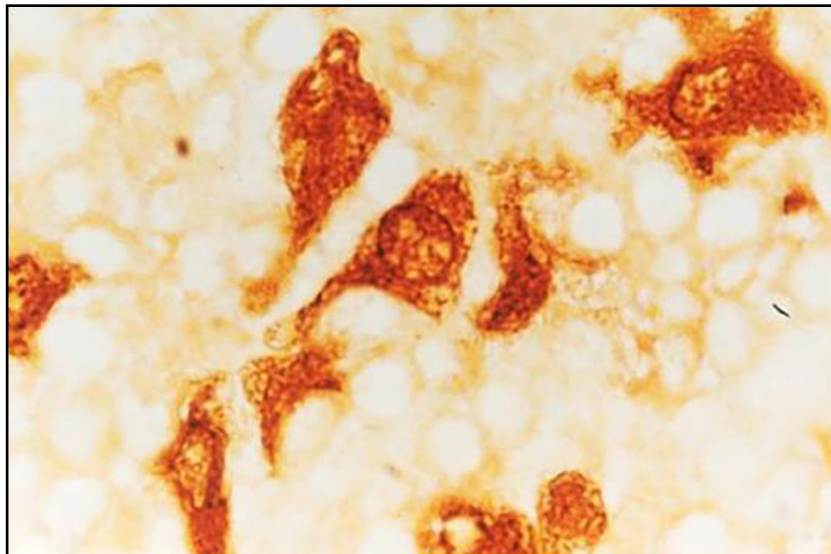


Fig. 3.15 Células TSH positivas (EnVision peroxidasa, anti-TSH x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

6. Población corticotropa.

a) **Microscopía de luz:** constituyen el 15 a 20% de la población de la *pars distalis* y secretan *corticotrofina* (ACTH), proteína de PM 4.507 Da, obtenida por escisión del precursor de la proopiomelanocortina (POMC).

Predominan en la zona centro-dorsal de la *pars distalis*. Son globulares con cortas prolongaciones y tienen un diámetro de 12-14 μm . Presentan núcleos algo excéntricos. Son basófilas con H-E, PAS+ y con tetracromo de Herlant se tiñen de azul intenso. A fin de diferenciar tirotropas de corticotropas se puede hacer una hematoxilina plúmbica que las permite ver de color púrpura (**fig. 3.16**).

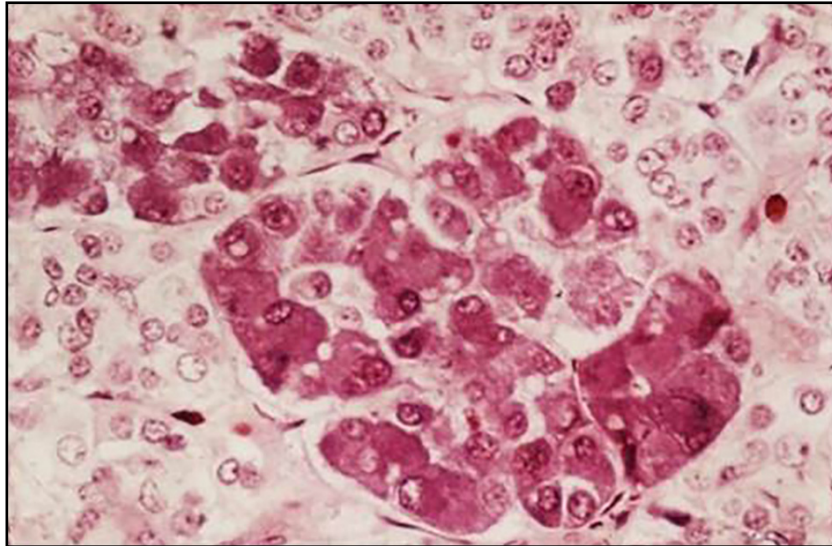


Fig. 3.16 Células corticotropas positivas (hematoxilina plúmbica x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** se detectan como células positivas irregulares con prolongaciones cortas y sus gránulos secretorios se inmunomarcán mediante (ACTH) - (anti-ACTH) (**fig. 3.17**).

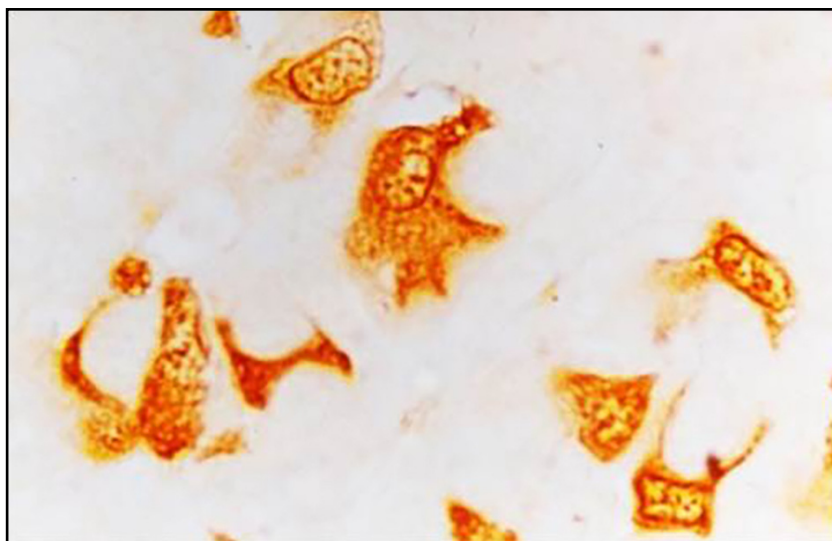


Fig. 3.17 Células ACTH positivas (EnVision peroxidasa, anti-ACTH x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

B. Población cromófoba.

a) **Microscopía de luz:** representan un 50% respecto a las células cromófilas y se las ve irregulares, con ausencia de gránulos secretorios. Pueden ser estadios iniciales de células granulares con escasos gránulos o involutivos terminales.

No se tiñen frente a los diversos colorantes utilizados para explorar los distintos tipos celulares cromófilos.

b) **Técnicas inmunohistoquímicas (IHQ):** resultan negativas debido a la escasez o ausencia de gránulos secretorios.

7. Población folículo-estelar.

a) **Microscopía de luz:** pertenecen al grupo de las células cromófobas agranulares, ya que no se tiñen con los colorantes marcadores de células cromófilas. Cumplen *funciones tróficas y fagocíticas*, *secretan interleuquina 6 (IL6)* y son *presentadoras de antígenos* porque expresan en su superficie el complejo mayor de histocompatibilidad II (CMHII).

b) **Técnicas inmunohistoquímicas:** se ven como células estrelladas irregulares con largas prolongaciones que envuelven a las células secretorias vecinas y presentan reacción al anticuerpo proteína S₁₀₀ y a la GFAP (proteína gliofibrilar ácida). Se relacionan con las células secretorias ya que tendrían acción paracrina.

Las FE cumplen *funciones de soporte, metabolismo, transporte macromolecular, fagocitosis, agentes de paracrinia y células madre*. Secretan factores de crecimiento fibroblástico (FGF) y endotelial vascular (VEGF) e interleuquina 6 (IL-6) y se ha sugerido la posibilidad de que constituyan un tipo de *célula madre* con potencialidad para diferenciarse en células endocrinas. En la **fig. 3.18** se observan células *folículo-estelares* (CFE) sin gránulos secretorios y con largas prolongaciones estelares que se internan entre las células secretorias para regular su secreción. Sus folículos sólo se ven en microscopía electrónica.

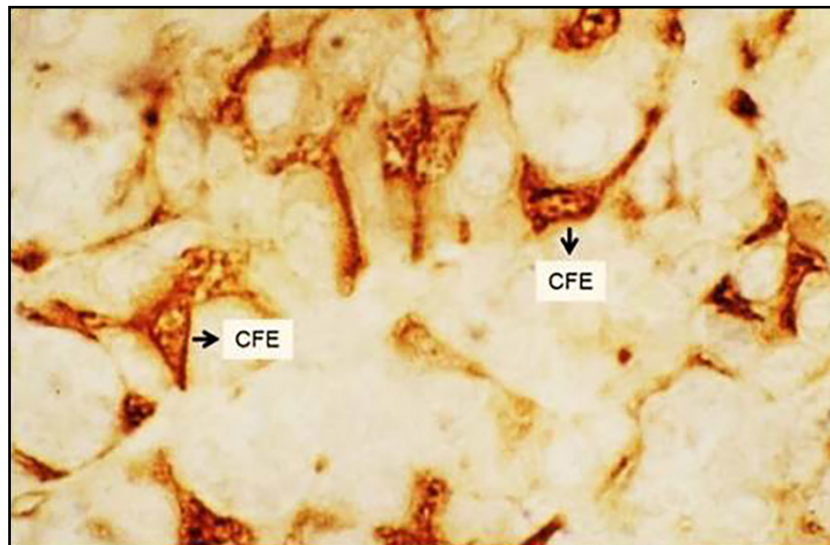


Fig. 3.18 Células S100+ (Células folículo-estelares: CFE) (EnVision peroxidasa, anti-S100 x 1.000). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

3.6 Interacciones paracrinas en las células adenohipofisarias

La hipófisis anterior es una glándula endocrina productora de seis hormonas tróficas: corticotrofina (ACTH), hormona de crecimiento (GH), prolactina (PRL), tirotrófina (TSH), hormona folículo-estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). Cada una de estas hormonas es expresada por un tipo celular altamente diferenciado que se origina en una célula madre común cuya expresión fenotípica es determinada por los factores de transcripción, los receptores de superficie y las señales hipotalámicas (Rosenfeld y col.,

1996; Mangalam y col., 1989; Horn y col., 1989; Theill y Karin, 1993; Ray y Melmed, 1997; Vankelecom y Gremeaux, 2010; Davis y col., 2013; Welcker y col., 2013, Vankelecom y Chen, 2014; Willems y col., 2016).

Las células endocrinas y no endocrinas (células folículo-estelares: FE) están organizadas en redes estructurales y funcionales que se forman durante el desarrollo embrionario y que se modifican durante toda la vida. El mapeo estructural ha permitido detectar dichas redes conectadas a los vasos sanguíneos y con memoria de la información para adaptarse a los cambios intrapituitarios e hipotalámicos (Le Tissier y col., 2012).

Se ha comunicado un patrón de expresión de la *proteína de unión adherente (caderina)* en los contactos intercelulares pituitarios que determinaría las redes celulares homotípicas (Chauvet y col., 2009). Los avances en imágenes tridimensionales (3D) han enriquecido la histología tradicional de la glándula pituitaria, mostrando diferentes linajes celulares conectados en redes, a fin de coordinar las respuestas a los diferentes secretagogos (Mollard y col., 2012).

Las poblaciones responsables de la secreción de las hormonas de la pituitaria anterior son reguladas por el sistema nervioso central a través de **factores hipotalámicos estimuladores e inhibidores**, así como por **mecanismos de retroalimentación** mediados por hormonas de las glándulas endocrinas periféricas.

Ciertas proteínas producidas a nivel intrapituitario regulan la función y la organización celular. Estos **factores de crecimiento y citoquinas**, además de mediar en la división celular, controlan la expresión de genes específicos de las hormonas tróficas. Por lo tanto, esta red de señales intrahipofisarias provee otro nivel de control integrado con señales centrales y periféricas que modulan la secreción de las hormonas tróficas y la proliferación celular. Estos factores de crecimiento pituitarios presentan una función dual: regulan la replicación celular y controlan la expresión de los genes de diferenciación. La mayoría de los factores de crecimiento parecen ser sintetizados por las células secretoras de las hormonas tróficas (Halper y col., 1992; Thapar y col., 1995). El control intrínseco intrapituitario depende de las señales autocrinas y paracrinas (Denef y col., 1989; Jones y col., 1990).

Los factores **activina** (Ling y col., 1986), **endotelina** (Dymshits y col., 1992), óxido nítrico (Duvilanski y col., 1995), **neuropéptidos** (O'Halloran y col., 1990), **citoquinas**, *factor de crecimiento fibroblástico (FGF)*, *factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)*, *factor de crecimiento insulino-símil tipo I (IGF-I)*, *polipéptido activador de la adenilato ciclasa (PACAP)*, **grelina**, **adenosina** y otros, están implicados mediante una acción autocrina-paracrina en una compleja red de regulación intrapituitaria (Bilezikjian y Vale, 2011).

La yuxtaposición entre grupos celulares específicos está relacionada con la liberación de un gran número de agentes paracrinos al espacio intercelular (Jones y col., 1990). Además, las enzimas convertidoras de renina y angiotensina han sido inmunomarcadas a nivel de las células gonadotropas (Deschepper y col., 1986). Soji y Herbert (1990) detectaron que las comunicaciones intercelulares dentro de la pituitaria anterior cambiaron luego de la castración o de la inyección de hormona liberadora de LH (LHRH) o de testosterona y hallaron un menor desarrollo folicular con reducido número de uniones hendidura en animales castrados con/sin LHRH, respecto a los controles. En contraste, los animales que recibieron testosterona evidenciaron ultraestructura similar a los intactos. Se ratificó que las células FE agranulares inmunomarcadas con proteína S100, portadoras de **receptores β adrenérgicos**, podrían actuar como células progenitoras ya que muestran mitosis (Soji y col., 1997). Kurono (1996) logró aumentar el número de uniones hendidura en las células FE, bajo la influencia de los esteroides gonadales. Wada y col. (2014) comunicaron en un estudio ultraestructural que el sistema de células FE-neuronas LHRH de *pars tuberalis* regularían la secreción de LH, junto con el sistema porta hipofisario.

La angiotensina II y el péptido intestinal vasoactivo (**VIP**) actuarían como estímulos para la liberación de PRL mediante un mecanismo autocrino (Nagy y col., 1988). Las acciones mitogénicas y anti-mitogénicas de los estrógenos sobre las lactotropas no requerirían señales paracrinas de otros tipos celulares pituitarios, ya que la acción estrogénica sería directa.

El *factor de crecimiento fibroblástico (FGF)* inhibió la proliferación lactotropa y su inmunoneutralización no pudo bloquear la proliferación inducida por los estrógenos. Además, los niveles celulares de **FGF** no estuvieron alterados por el tratamiento estrogénico (Ishida y col., 2007). Rossier y col. (1980) comunicaron que los péptidos opioides detectados en la pituitaria anterior tendrían un posible rol en la liberación paracrina de la GH. Además, la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) podría estimular

la liberación de LH, indicando una probable interacción paracrina entre corticotropas y gonadotropas (Blumenfeld y col., 1986). El factor de crecimiento epidérmico estimuló la secreción de PRL y GH, mientras que el FGF potenció la liberación de TSH (Jones y col., 1990). La red tridimensional de las células endocrinas pituitarias permitió ratificar la presencia de comunicaciones célula-célula mediante uniones adherentes. Esta conectividad física mediaría las respuestas para coordinar la secreción hormonal pulsátil de la GH (Asa y Tannenbaum, 2006).

Las células FE producen **factores de crecimiento** y **citoquinas**, incluyendo la **folistatina** que regularía la FSH uniéndose a la activina. Las células FE ejercen un control paracrino sobre la población gonadotropa, ya que el aumento del PACAP estimularía la **folistatina** con descenso del ARNmFSH β y la activación del gen ARNmLH β (Winters y Moore, 2007). Filippa y col. (2012) estudiaron las asociaciones entre las células pituitarias de vizcacha y hallaron gonadotropas mono y bihormonales (FSH/LH) rodeadas de lactotropas y conectadas con las células FE. Durante el fotoperíodo largo, las asociaciones más numerosas fueron entre células LH-GH y LH-TSH.

Las células adenohipofisarias no están distribuidas al azar. Por el contrario, se localizan de modo preciso dentro de la glándula (Papka y col., 1986) y muestran prevalencia de asociaciones selectivas con implicancias en los mecanismos paracrinos. Las vías de comunicación entre las células dependieron del grado de yuxtaposición entre ciertos grupos celulares específicos. Los hallazgos morfológicos detectados mediante inmunomarcación doble proveen una herramienta útil en este campo (Falini y col., 1982). Hemos detectado frecuentes asociaciones entre células somatotropas-corticotropas y lactotropas-gonadotropas, en correlación con otros estudios (Siperstein y Miller, 1970; Jones y col., 1990).

Los hallazgos inmunohistoquímicos detectaron células somatotropas dispersas por toda la *pars distalis*, siendo más numerosas en la zona centro-dorsal y estando casi ausentes cerca de la *pars intermedia*. Hemos hallado yuxtaposición de somatotropas con corticotropas (46%) (**fig. 3.19**), con células FE (19%), con tirotropas (18%) y con lactotropas (17%) (Cónsole y col., 1999).

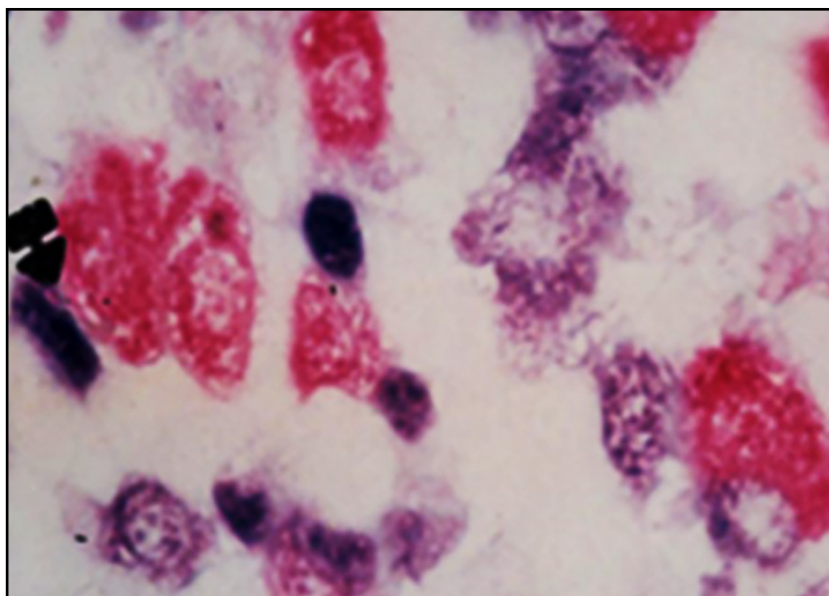


Fig. 3.19 Yuxtaposición somatotropas (azul) - corticotropas (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

Las células PRL aparecieron dispersas, siendo más numerosas en la región ventral de la *pars distalis*. En algunos casos, una célula lactotropa estuvo rodeada por varias gonadotropas, tal como fue comunicado por Sato (1980) y Nogami y Yoshimura (1982). La afinidad entre lactotropas-gonadotropas ha sido demostrada en células pituitarias en cultivo, separadas por disociación enzimática, de modo tal que al ser reagrupadas restablecieron los complejos de unión (Horvath y col., 1977). Detectamos mayor afinidad

topográfica (58%) entre lactotropas-gonadotropas (**fig. 3.20**) y menor grado de relación con las células FE (23%) y las células somatotropas (19%) (Cónsole y col., 1999).

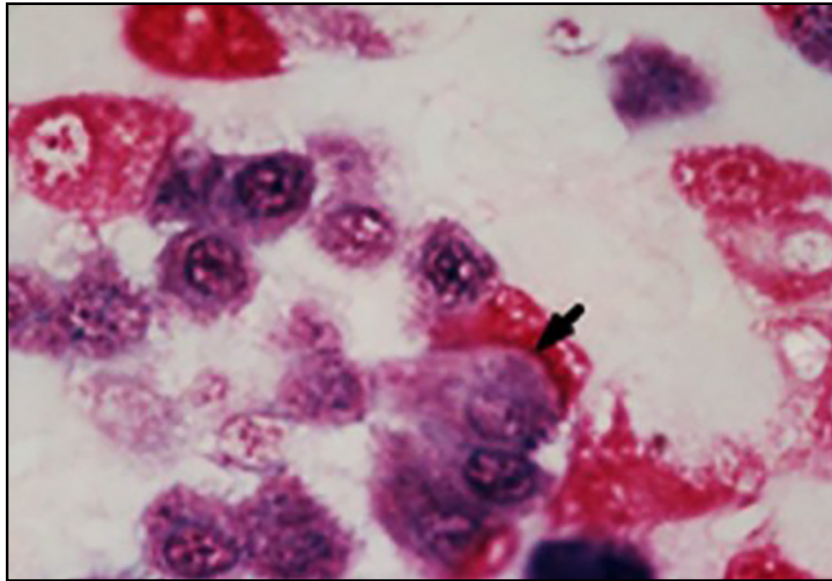


Fig. 3.20 Yuxtaposición lactotropas (azul) - luteinizantes (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

Se observaron escasas células mamosomatotropas (menos del 2%) que fueron inmunomarcadas de modo simultáneo con sueros anti-GH y anti-PRL (Cónsole y col., 1999). Estos datos estuvieron en concordancia con algunos autores que comunicaron 5% (Leong y col., 1985) y 0.2% (Pasoli y col., 1994) de mamosomatotropas, diferenciándonos de otros autores que hallaron altos valores (15% según Frawley y col., 1985).

El estudio de las células tirotropas permitió localizarlas en la región centro-ventral de la *pars distalis*, exhibiendo yuxtaposición con somatotropas (35%), con células FE (34%) (**fig. 3.21**) y con otros tipos celulares (31%) (Cónsole y col., 1999). Nuestros resultados estuvieron concordaron con los hallazgos de Yoshimura y Nogami (1980).

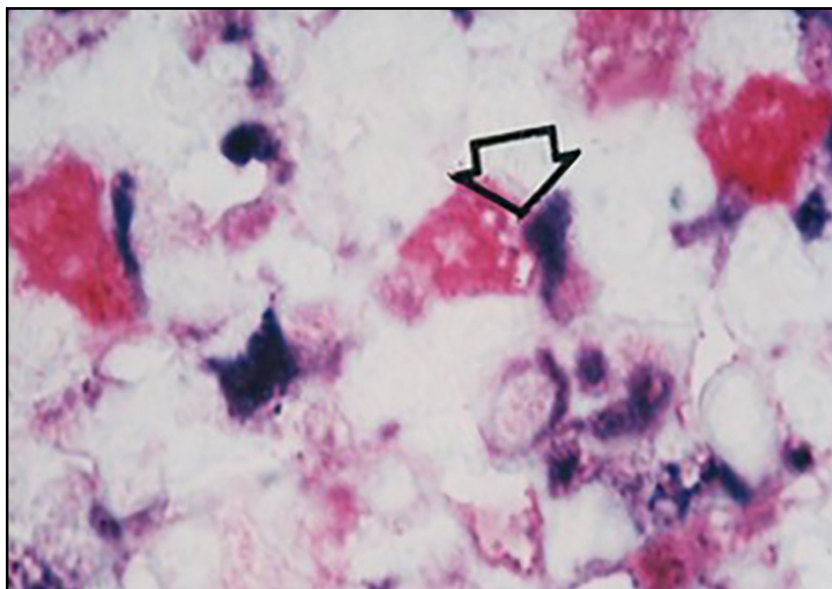


Fig. 3.21 Yuxtaposición células FE (azul) - tirotropas (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

El análisis IHQ morfométrico de gonadotropas mostró células luteinizantes y folículo tropas en grupos, en especial en la periferia de la zona ventral de la *pars distalis*. Gran número de células gonadotropas (78%) se tiñeron de color púrpura, por superposición del cromógeno rojo y azul, debido a la superposición de los antiseros anti-LH y anti-FSH (**fig. 3.22**) (Cónsole y col., 1999).

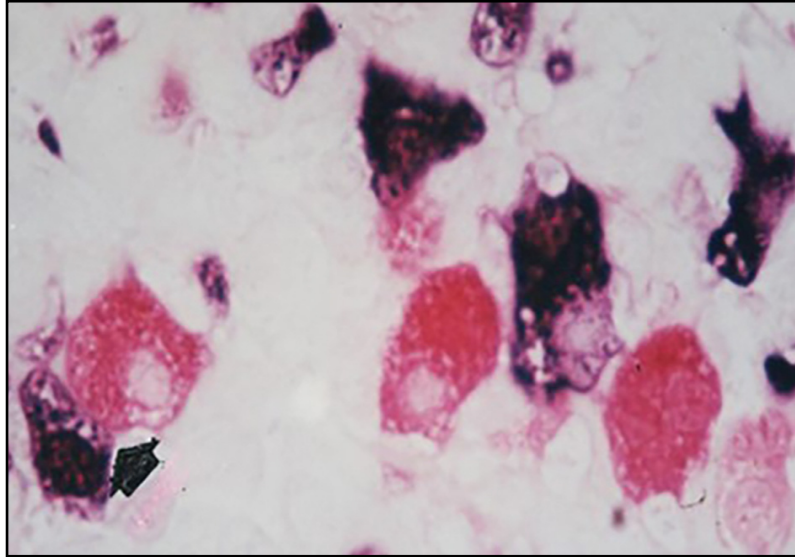
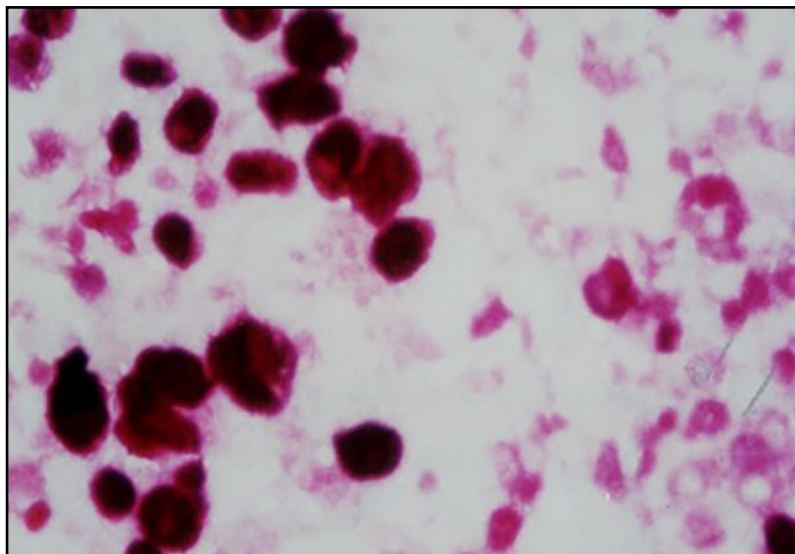


Fig. 3.22 Yuxtaposición células luteinizantes (azul) - folículo tropas (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

Parece confirmarse que las diferentes características morfológicas de las gonadotropas representarían estadios funcionales de un mismo tipo celular. Además, el concepto de división del trabajo en la población gonadotropa ha sido ratificado en estudios inmunohistoquímicos realizados por Childs (1995). Durante los picos de depósito hormonal se ha demostrado que más del 70% de las gonadotropas presentan antígenos LH y FSH (Childs y col., 1987).

Las células corticotropas inmunomarcadas en el estudio aparecieron especialmente en la región centro-dorsal de la *pars distalis*. Un gran número de las mismas presentaron bandas citoplasmáticas (rojas) que rodearon a las somatotropas (58%) (**fig. 3.23**). Un menor número (18%) de corticotropas se conectaron con gonadotropas (Cónsole y col., 1999).



3.23. Yuxtaposición corticotropas (azul) - luteinizantes (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

Las células FE fueron observadas en grupos o dispersas por toda la *pars distalis* y exhibieron largas prolongaciones que rodearon a los diferentes tipos de células endocrinas adyacentes, en concordancia con lo documentado por Vila-Porcile y Olivier (1984).

Se hallaron asociaciones de células FE con: gonadotropas (32%), lactotropas (21%), corticotropas (18%), somatotropas (16%) y tirotropas (13%) (Cónsole y col., 1999).

En la **fig. 3.24 A-B** se presenta la yuxtaposición entre células FE-células luteinizantes y FE-corticotropas.

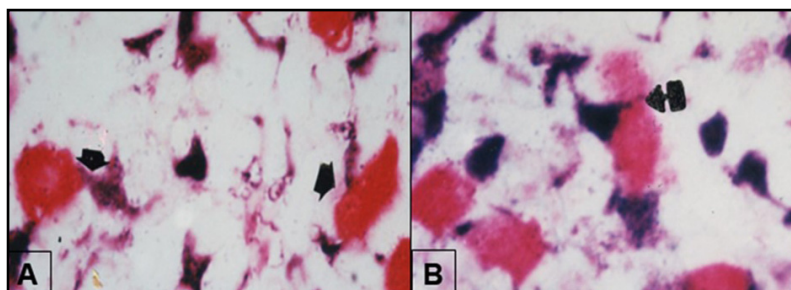


Fig. 3.24 A-B. Yuxtaposición A. Células FE (azul) - luteinizantes (rojo). B. Células FE (azul) - corticotropas (rojo). (EnVision peroxidasa, x 400).

Girod y col. (1985) detectaron que las células FE se relacionaban con somatotropas, lactotropas y corticotropas, al aplicar inmunocitoquímica de doble marcación. Allaerts y col. (1990) ratificaron las funciones de las células FE: sostén, trofismo, transferencia de iones-metabolitos, así como la secreción de citoquinas y factores de crecimiento. Además, se ha sugerido una función fagocítica de los restos celulares (García Navarro y col., 1989) y de los cuerpos apoptóticos (Drewett y col., 1993), así como la secreción de moléculas que actuarían como agentes paracrinos (Baes y col., 1987).

La interleuquina 6 (**IL-6**), secretada por las células FE, estimularía la secreción de PRL, GH y LH (Jones, 1990). El **PACAP** fue detectado en la línea celular TtT/FG y aumentaría la proliferación celular de las células FE, así como la producción de **IL-6** y **AMPC** (Matsumoto y col., 1993). Además, la población FE contiene una proteína **S100** que estimularía su secreción ante un descenso en la inhibición de la dopamina (Allaerts y col., 1990).

Las lactotropas, somatotropas, gonadotropas y corticotropas en cultivo modificaron su respuesta a los diferentes agentes extracelulares dependiendo de la aplicación de proporciones variables de células FE (Allaerts y col., 1994). Las interrelaciones célula a célula dentro de la glándula pituitaria parecen depender, en su mayor parte, de los esteroides sexuales.

La gonadectomía promovió el aumento de las conexiones entre células FE y gonadotropas, mientras que la tiroidectomía causó un descenso en el número de células FE y una reducción de su afinidad a las células tirotropas (Shirasawa y col., 1983).

Allaerts y col. (1997a) hallaron una distribución heterogénea de las células FE, mediante estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales. Además, se demostró que las células FE producen citoquinas capaces de influenciar en la secreción hormonal (Allaerts y col., 1997b; Sato y col., 2005a-b).

En la adenohipófisis aviaria se ha comunicado una relación morfológica y funcional entre tirotropas y células FE (Harrison y col., 1982). El hallazgo de hormonas adenohipofisarias en las células **S100+** ha permitido sugerir que las células FE serían capaces de diferenciarse en células productoras de hormonas (Kikuchi y col., 2011).

Baes y col. (1987) documentaron la comunicación funcional entre células FE y células endocrinas mediante perfusión de pituitarias. Allaerts y col. (1994) demostraron una atenuación de las diferencias en el porcentaje de secreción en cocultivos de células gonadotropas enriquecidos con células FE, en respuesta a la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH).

Además, en cultivos de pituitaria anterior, Katayama y col. (1992) sugirieron que las células FE estarían involucradas en la regulación paracrina durante la morfogénesis y en la función de las células gonadotropas por acción de la activina mediada por folistatina. Estos hallazgos podrían dar soporte a las frecuentes conexiones que hemos detectado entre ambas poblaciones mediante estudios inmunohistoquímicos y ultraestructurales.

Westlund y Childs (1982) comunicaron la presencia de fibras nerviosas serotoninérgicas en la pituitaria anterior y Mabuchi y col. (2008) detectaron, mediante estudios ultraestructurales, la presencia de neuronas, fibras mielínicas y amielínicas, células de sostén y células FE en la zona de transición entre *pars tuberalis*, *intermedia* y *distalis*.

Shirasawa y col. (2007) presentaron un estudio inmunohistoquímico y ultraestructural sobre la relación entre células FE y neuronas GnRH de la parte dorsal de la *pars tuberalis*.

3.6.1 Ultraestructura de la conexión entre células adenohipofisarias

Los estudios de microscopía electrónica permitieron confirmar conexiones observadas mediante IHQ (Cónsole y col., 1999). Las células FE fueron halladas en toda la *pars distalis* contactando con las células vecinas. En la **fig. 3.25** se observa una célula FE conectada con varias células granulares y con un pequeño folículo intracitoplasmático central.

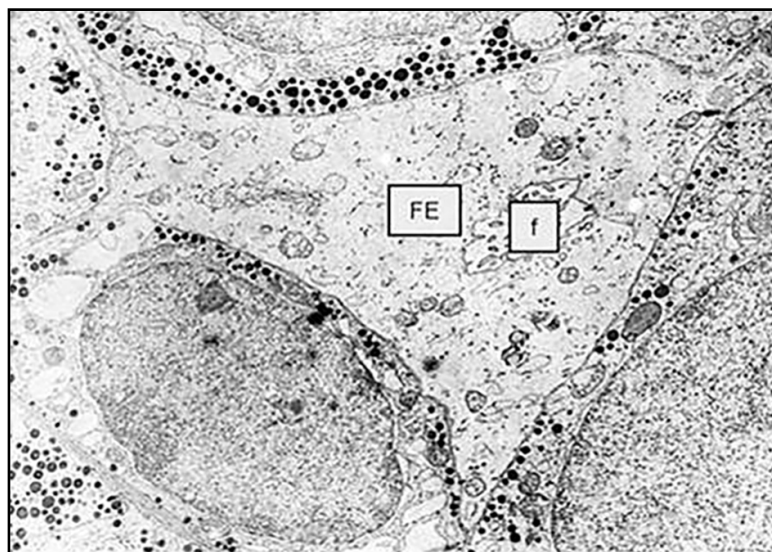


Fig. 3.25 Célula FE conectada con varias células granulares. Se ve un folículo (f) intracitoplasmático central (x 6.000).

En la **fig. 3.26** se ve un proceso citoplasmático que contacta con las células secretorias.

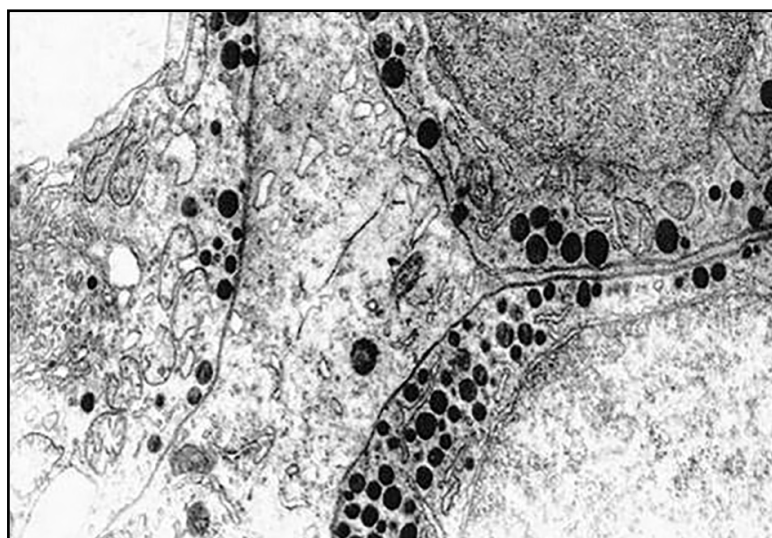


Fig. 3.26 Célula FE. Proceso citoplasmático central en contacto con las células granulares vecinas (x 12.000).

Fig. 3.27: grupo de células FE que limitan un folículo con microvellosidades.

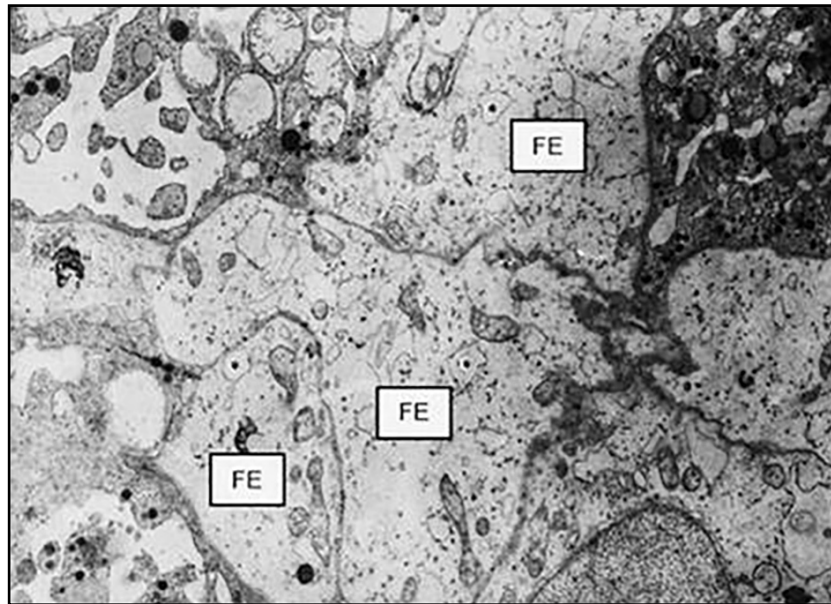


Fig. 3.27 Células FE. Limitan un folículo: se ven numerosas interdigitaciones con microvellosidades (x 6.000).

Entre las células endocrinas y las células FE se detectaron algunas uniones intercelulares: *desmosomas*, *hemidesmosomas* y *zonas adherentes*. Estos complejos de unión también conectaban dos células endocrinas y dos células FE. Nuestras observaciones captaron frecuentes desmosomas entre las células endocrinas (**fig. 3.28A**) y también hemos detectado uniones hendidura (gap) (**fig. 3.28B**) y uniones septales.

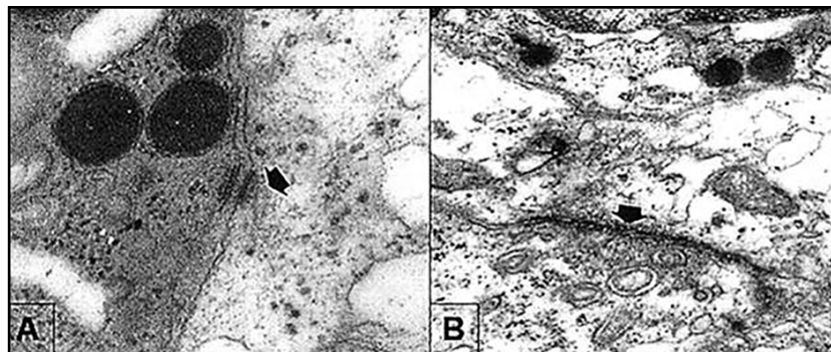


Fig. 3.28 A-B. **A. Desmosoma.** Conecta una célula granular con una célula FE (x 40.000). **B. Unión hendidura:** entre dos FE (x 20.000).

Otros estudios de microscopía electrónica han ratificado la existencia de comunicaciones célula a célula en la pituitaria anterior, la que se sustentó en la presencia de varios tipos de uniones intercelulares, tales como desmosomas y uniones hendidura (Fletcher y col., 1975; Herbert, 1979; García-Navarro y col., 1989; Soji y Herbert, 1989; Soji y col., 1992; Sato y col., 2005a). La presencia de un sistema de folículos interconectados en la adenohipófisis ha sugerido la posibilidad de un sincitio con señales de transmisión a través de las uniones hendidura (Soji y col., 1992). Tales uniones metabólicas responderían a señales intracelulares específicas que podrían inducir el cierre del canal en un proceso reversible (Godwin y col., 1993). Además, aunque la existencia de complejos

de unión ocluyendo la luz folicular ha sido aceptada, la peroxidasa inyectada por vía vena femoral pudo ser detectada dentro de la cavidad folicular. Los folículos adenohipofisarios podrían no siempre estar sellados por uniones cerradas (Mabuchi y col., 1996). Morand y col. (1996) usando moléculas fluorescentes en cultivos de los cinco tipos de células endocrinas y de células FE, detectaron uniones hendidura funcionantes entre células vecinas. De acuerdo con Kurono y col. (1994), hemos detectado uniones hendidura y tabicadas entre células FE adyacentes, presumiendo una función relacionada con el pasaje de metabolitos y con los soportes mecánicos foliculares.

Concluimos que los estudios IHQ de doble marcación han permitido la detección y cuantificación de la afinidad topográfica entre los diferentes tipos de células adenohipofisarias. Hemos hallado un alto grado de yuxtaposición entre somatotropas-corticotropas, lactotropas-gonadotropas y somatotropas-tirotropas. Las células FE mostraron frecuentes contactos con todos los tipos celulares endocrinos y el estudio ultraestructural detectó diversos tipos de uniones intercelulares. Los aportes en la yuxtaposición celular permitirán contribuir a clarificar los mecanismos autocrinos y paracrinos involucrados en la actividad hormonal intrapituitaria.

3.7 Células multihormonales

La pituitaria anterior contiene células multihormonales que almacenan y secretan diferentes hormonas bajo la influencia de las hormonas hipotalámicas. Las *células mamosomatotropas* almacenan de modo simultáneo **GH** y **PRL**.

Se han documentado *corticotropas multihormonales* con ACTH y otras hormonas. Luego de la *tiroidectomía* se observan células con **TSH** y **GH**. Se han comunicado múltiples receptores en las células pituitarias: gonadotropas con receptores de hormona liberadora de GH (GHRH) y somatotropas con receptores de hormona liberadora de LH (LHRH). Se pueden detectar células multihormonales (**cuadro 3.3**):

- PRL-GH.
- GH/LH/FSH.
- FSH/LH/ACTH.
- FSH/LH/TSH.
- FSH/LH/PRL.

Cuadro 3.3 Células multihormonales en la pituitaria anterior.

ACTH	TSH	GH	PRL	LH/FSH	Número
		X	X		Abundante
X	X			X	Abundante
X				X	Detectable
X		X			Escaso
X			X		Escaso
X	X				Escaso

3.8 Pars intermedia

Secreta *pro-piomelanocortina* (**POMC**) que se escinde para dar *lipotropina* (**β -LPH**) y dos formas (α , β) de *hormona estimulante de melanocitos* (**MSH**). En anfibios y reptiles, la MSH produce

oscurecimiento de la piel y en mamíferos induciría la síntesis de melanina. La *pars intermedia* rudimentaria muestra *folículos* (Fo) de diferente tamaño, con paredes revestidas por células epiteliales y coloide central (figs. 3.29-3.30).

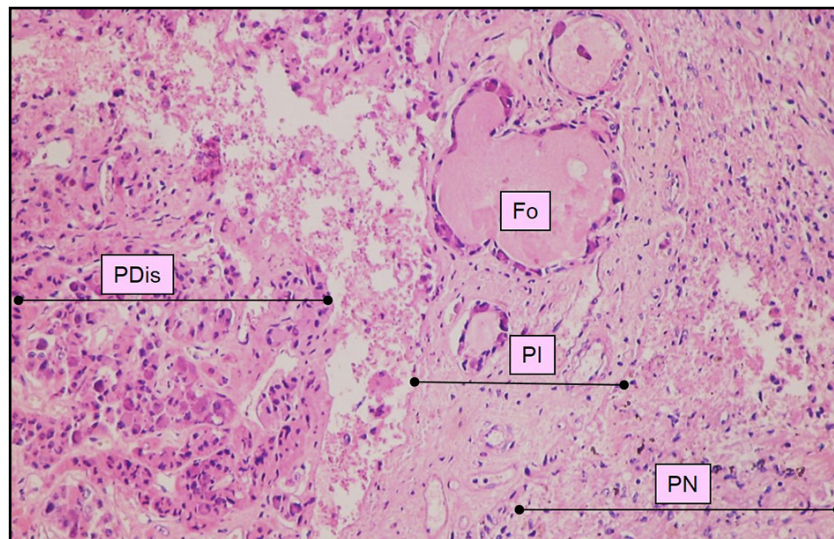


Fig. 3.29 *Pars intermedia* (PI). *Pars neural* (PN). *Pars distalis* (PD) (H-E x 600). (Glándula hipofisaria: morfología normal y patológica, Cónsole GM, 2017).

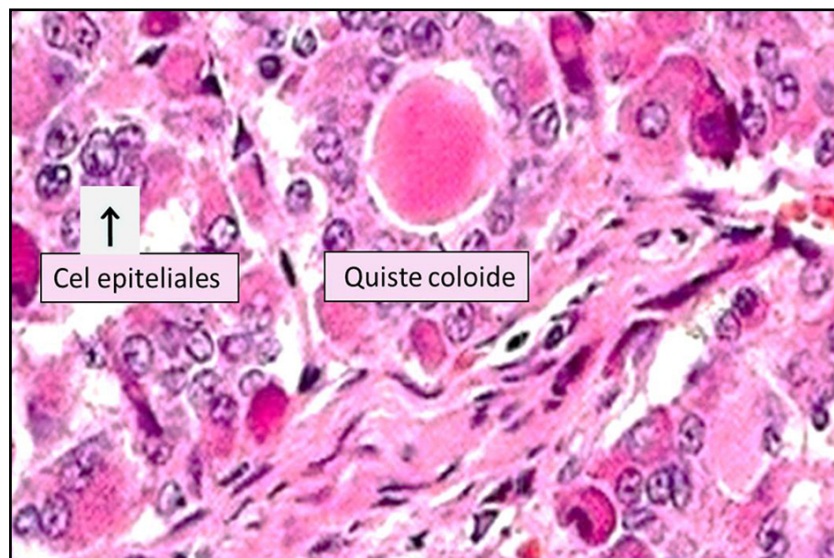


Fig. 3.30 *Pars intermedia* (web).

3.9 *Pars tuberalis*

Presenta cordones celulares secretorios longitudinales con una red capilar ricamente ramificada. Predominan las células gonadotropas y, en menor número, se ven corticotropas, tirotropas y células FE. Se observan algunos nidos de células escamosas, a partir de los cuales pueden desarrollarse quistes.

3.10 Pars neural

Los núcleos hipotálamicos *supraóptico* y *paraventricular* neurosecretan **oxitocina** y **hormona antidiurética**. Sus axones amielínicos forman el *haz hipotálamo-hipofisario* que llega a la *pars nervosa* pituitaria donde las hormonas se almacenan y liberan. En el trayecto axonal se presentan los *cuerpos de Hering* (neurocrinia). Hay *fibras nerviosas* amielínicas, cuerpos esféricos basófilos: *cuerpos de Hering* que acumulan gránulos secretorios y *material almacenado* basófilo en contacto con *capilares fenestrados* (figs. 3.31 A-B y 3.32).

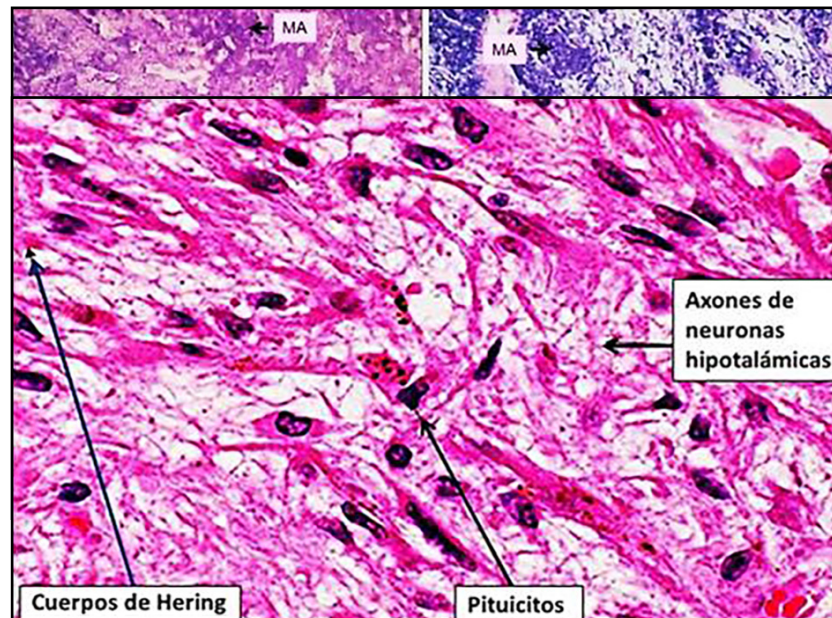


Fig. 3.32 Pars neural (slideshare).

3.11 Histofisiología

A nivel hipotálamico se secretan los **neurotransmisores** y las **hormonas hipotálamicas hipofisotróficas** (HHH). Entre los neurotransmisores se hallan: dopamina, adrenalina, noradrenalina, serotonina, ácido γ -aminobutírico (GABA), histamina, opiáceos y péptidos. Las HHH comprenden: hormona liberadora de la secreción de GH (GHRH), hormona inhibidora de la secreción de GH (GHI), hormona liberadora de PRL (PRH), hormona inhibidora de PRL (PIH), hormona liberadora de TSH (TRH), hormona liberadora de las gonadotrofinas (LH y FSH) (GnRH), hormona inhibidora de las gonadotrofinas, (GnIH) y hormona liberadora de ACTH (CRH).

Algunas de las hormonas hipofisotróficas no han sido aisladas aún, pero se conocen sus efectos regulatorios. En el hipotálamo existen dos formas de GHRH: GHRH (1-44) y (1-40). Se produce en las neuronas del núcleo arcuato y de la región tuberoinfundibular con axones que llegan a la eminencia media y vuelcan su contenido en el sistema porta.

La GHRH produce secreción de GH entre 15 y 45 minutos. Los estrógenos, el ayuno y los glucocorticoides aumentan la respuesta de la GH a la GHRH. Por el contrario, la GHI (somatostatina), la obesidad y el envejecimiento disminuyen dicha respuesta. La GHI es una molécula de 14 AA (SST-14). Se origina en neuronas del arcuato y paraventricular. A dosis fisiológicas inhibe la GH y la TSH. A dosis altas ejerce acción inhibitoria sobre PRL y ACTH.

A nivel hipofisario se produce síntesis, depósito y liberación de las diversas **hormonas hipofisarias (HH)**:

- Hormona de crecimiento (GH).
- Prolactina (PRL).
- Gonadotrofinas: hormona folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH).

- Tirotrófina (TSH).
- Corticotrofina (ACTH).

Las HH actúan sobre los órganos blanco hormono-dependientes. Se han documentado mecanismos intrapituitarios paracrinos y autocrinos (Nagy y col., 1988; Jones y col., 1990).

En el **cuadro 3.2** se sintetizan las principales características de las hormonas adenohipofisarias.

Cuadro 3.2	TSH	LH	FSH	GH	PRL	ACTH
Tipo	Glicoproteica	Glicoproteica	Glicoproteica	Proteica	Proteica	POMC: Glicoproteico
Componentes	$\alpha\alpha 1b$ - Btsh	$\alpha\alpha 1b$ - β LH	$\alpha\alpha 1b$ - β FSH	Cadena proteica	Cadena proteica	Deriva de POMC
Población Secretora	Tirotrópa	Luteinizante	Folículo trópa	Somatotrópa	Lactotrópa	Corticotrópa
Estimulador Hipotalámico	TRH	GnRH	GnRH	GHRH	TRH PRH	CRH Vasopresina
Inhibidor Hipotalámico	Somatostatina (GHI) Dopamina	GnIH	GnIH	GHI	PRI (dopamina)	CRI?
Blanco	Células foliculares Tiroideas	Células tecales y granulosas Células de Leydig	Células granulosas. Células de Sertoli	Hígado: IGF-I y tejidos en general	Glándula mamaria y tejidos en general	Corteza suprarrenal
Función	Secreción de hormonas tiroideas	Estimula secreción de estrógenos y testosterona	Regula células tecales y células de Sertoli	Crecimiento de huesos largos y tejidos (IGF-I)	Lactancia y equilibrio hidrosalino	Secreción de glucocorticoides. Menor grado: mineralocorticoides

Existen **vías de retroalimentación negativa** desde las glándulas endocrinas periféricas hacia el eje hipotálamo-pituitario que regula funciones como crecimiento, metabolismo, reproducción, lactancia, nutrición y equilibrio hidrosalino (Peillon y col., 1996).

La pituitaria responde a señales centrales y periféricas que se integran mediante interacciones celulares y moleculares específicas, formando redes de regulación transcripcional que determinan la secreción de las hormonas pituitarias esenciales para una respuesta fisiológica adecuada (Pérez-Castro y col., 2012). La microscopía electrónica ha clarificado la función de las poblaciones pituitarias. Asa y Kovacs (1992) realizaron estudios que han permitido correlacionar la estructura con la función, hallando una hipertrofia del RER ante un aumento en la síntesis de las hormonas adenohipofisarias. Esto tiene implicancias en la valoración terapéutica de la estimulación o la inhibición de los ejes cuando se administran hormonas y drogas. Aunque se conocen muchos estímulos fisiológicos asociados con cambios en la actividad trófica, la diferenciación y en los perfiles de secreción de las subpoblaciones hipofisarias, los mecanismos precisos y sus consecuencias siguen siendo oscuros. Por ejemplo, las corticotropas en condiciones basales varían más del doble y no se sabe si el incremento de tres veces en las lactotropas durante el embarazo es el resultado de la maduración de las células no comprometidas, la transdiferenciación de las somatotropas, la división celular o una combinación de las tres opciones (Levy, 2002).

3.11.1 Eje somatotropo

A nivel hipotalámico se presentan los factores liberadores (GHRH) e inhibidores (GHI) de la hormona de crecimiento (GH). En el hipotálamo existen dos formas de GHRH: GHRH (1-44) y (1-40). Se produce en las neuronas del núcleo arcuato y de la región tuberoinfundibular con axones que llegan a la eminencia media y vuelcan su contenido en el sistema porta.

La GHRH produce secreción de GH entre 15 y 45 minutos. Los estrógenos, el ayuno y los glucocorticoides aumentan la respuesta de la GH a la GHRH. Por el contrario, la GHI (somatostatina), la obesidad y el envejecimiento disminuyen dicha respuesta. La GHI es una molécula de 14 AA (SST-14). Se origina en neuronas del arcuato y paraventricular. A dosis fisiológicas inhibe la GH y la TSH. A dosis altas ejerce acción inhibitoria sobre PRL y ACTH.

En el segundo nivel hipofisario existe una población somatotropa secretora de GH y en un tercer nivel sérico la GH y las somatomedinas actúan favoreciendo el crecimiento de los huesos largos y de los tejidos en general. Existe un mecanismo de retroalimentación negativo que inhibe el nivel hipotálamo-hipofisario (**fig. 3.33**).

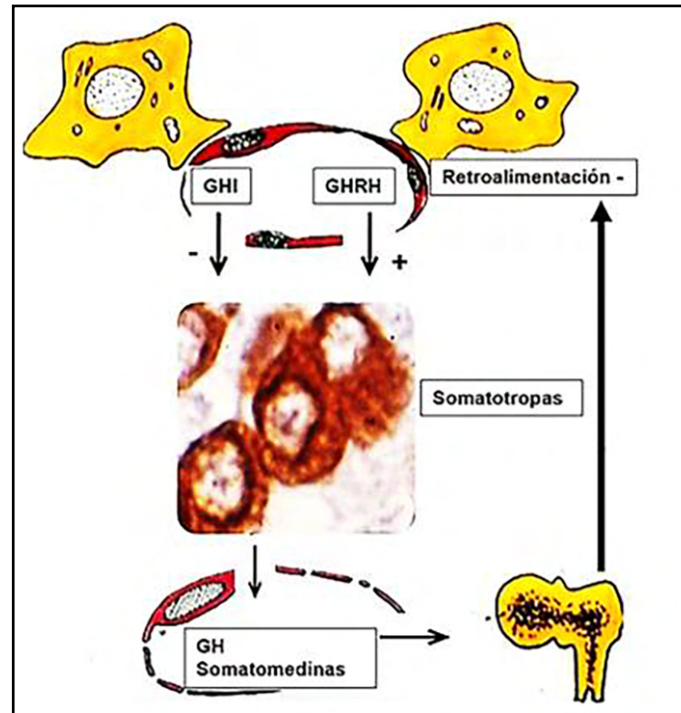


Fig. 3.33 Eje somatotrofo (Cónsole GM).

Hormona de crecimiento (GH) o somatotrofina (STH): está constituida por una cadena polipeptídica de 191 residuos aminoácidos (PM 21.500 Da). Circula unida a una proteína transportadora de GH (GHBP). Es una hormona anabólica que promueve el crecimiento tisular y regula el metabolismo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono. Muchos de sus efectos son ejercidos a través de las somatomedinas sintetizadas a nivel hepático y renal. Además, la GH activa la lipasa triglicéridica en adipocitos y aumenta las mitosis en el tejido hemocitopoyético. En humanos de edad avanzada se halló reducción de la GH y del factor de crecimiento insulino-símil tipo I (IGF-I), con pérdida de la masa corporal, aumento de la masa adiposa, descenso de la función renal y del índice mitótico (Rudman y col., 1981).

Entre los efectos de la GH mediados por las **somatomedinas** están: el crecimiento cartilaginoso articular, la incorporación de glucosa a los adipocitos y la estimulación de la síntesis de lípidos con inhibición de lipólisis. En la actualidad, se consideran somatomedinas (ej: IGFs) todas las sustancias que cumplan los siguientes requisitos: **a.** Concentración sérica regulada por GH; **b.** Acción estimulante de la incorporación de sulfatos al cartílago; **c.** Acción mitogénica sobre los fibroblastos y **d.** Actividad insulínica sobre los tejidos adiposo y muscular.

La GH y las somatomedinas tienen su blanco en el hueso, el cartílago, el músculo y el tejido adiposo. Existen receptores específicos que permiten una respuesta anabólica y una regulación metabólica. La GH y el IGF-I son capaces de determinar el crecimiento lineal antes de la pubertad afectando el crecimiento y la diferenciación celular en la vida adulta. La enzima quinasa promueve cambios en el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo, actuando sobre el eje somatotrofo (Tulipano y col., 2012).

Se han obtenido tres péptidos a los que se les atribuye actividad somatomedínica: **a. Somatomedina A:** neutra, PM 7.000, responsable de la incorporación de azufre en el cartílago; **b. Somatomedina B:** ligeramente

ácida, PM 5.000 que estimula la incorporación de timidina en los fibroblastos y en las células gliales y **c. Somatomedina C**: básica, incrementa la incorporación de azufre, glucosamina y timidina a nivel cartilaginoso.

La GH aumenta con el ejercicio, el sueño, el estrés y los agonistas dopaminérgicos. La vida media de la hormona circulante es de 15 minutos (Santomé y col., 1976). La GH se libera de modo pulsátil y la amplitud del pulso es mayor en machos que en hembras (Clark y col., 1987). La secreción de GH en humanos presenta un pico nocturno en las primeras 4 horas del sueño (Prinz y col., 1983).

Los esteroides sexuales están implicados en el control del crecimiento. El receptor de estrógeno α (RE α) actuaría sobre las lactotropas y ambos receptores (RE α y RE β) controlarían la transcripción de la GH en las somatotropas (Avtanski y col., 2014). La secreción de GH en hombres es estimulada por el estradiol derivado de la aromatización de la testosterona y en las mujeres por el estrógeno local.

La secreción de GH en mujeres descendió por el tamoxifeno, pero en los hombres estimuló el eje gonadal. El descenso de la secreción de GH en los hombres fue contrarrestado mediante la estimulación central de la secreción de GH por la testosterona (Birzniece y col, 2012).

Además, el receptor de dopamina 2 (RD2) que falta en los ratones transgénicos, produjo una hiperprolactinemia y una hiperplasia lactotropa, mostrando una alteración en la secreción pulsátil de GH que depende de un equilibrio entre GHRH y somatostatina, con descenso del IGF-I. El modelo permitiría clarificar la modulación del eje somatotrofo mediante receptores dopaminérgicos que controlarían la liberación de GH (García-Tornadu y col., 2010).

En niños, la deficiencia de GH produce **enanismo** y una secreción excesiva da lugar a **gigantismo**. En el adulto, el exceso de GH (debido, por ejemplo, a un adenoma secretante) provoca una **acromegalia**, caracterizada por un aumento de tamaño a nivel de las extremidades y de las vísceras (ver cap. 22).

3.11.2 Eje lactotrofo

Presenta un nivel hipotalámico con factores liberadores (PRH) e inhibidores (PIH) de la prolactina (PRL). Hay un segundo nivel hipofisario representado por la población lactotropa secretora de PRL y un tercer nivel sérico con PRL circulante que actúa sobre la glándula mamaria para favorecer la lactancia y que, además, controla el metabolismo hidrosalino.

Existe un mecanismo de retroalimentación negativo que regula los niveles hipotalámico y pituitario (**fig. 3.34**).

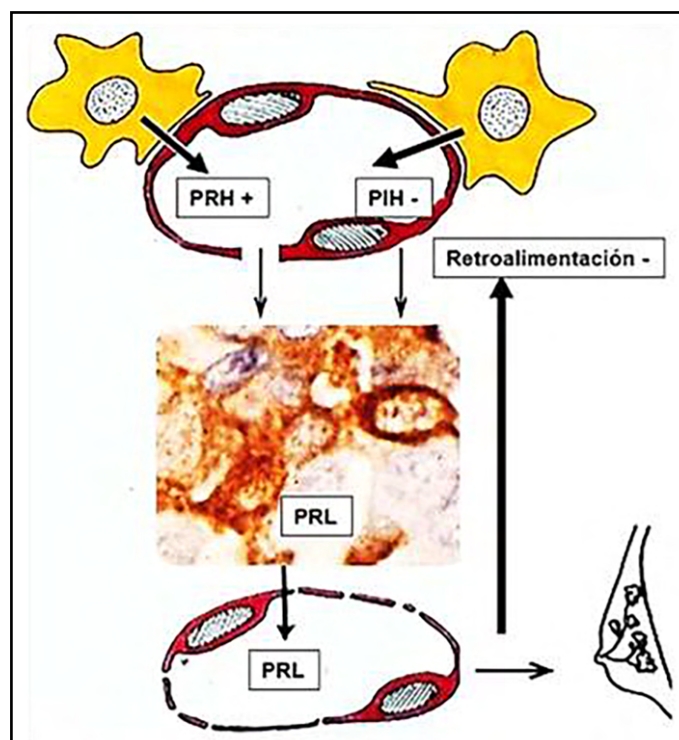


Fig. 3.34 Eje lactotrofo (Cónsole GM).

Prolactina (PRL): la PRL tiene una vida media corta (minutos) y es responsable de la iniciación y mantenimiento de la lactancia (PM 23.500 Da). La GH y la PRL derivarían de un gen ancestral común y estarían reguladas por un mismo factor de transcripción. Es un polipéptido de 199 AA con tres puentes disulfuro. En la circulación se detectan 3 formas con diferente peso molecular: monomérica (23 kd), dímero (48 a 56 kd) y polímero (100 kd). Se secreta en forma pulsátil y sufre variaciones circadianas, con un máximo al final del sueño/primeras horas de la mañana y mínimo entre 12 a 15 hs.

La PRL actúa sobre la glándula mamaria, provocando: **mamogénesis** (crecimiento y desarrollo), **lactogénesis** (síntesis de leche) y **galactogénesis** (mantenimiento de la secreción de la leche). En roedores se ha demostrado que el crecimiento y desarrollo alveolar requiere la acción complementaria de estrógenos, progesterona y glucocorticoides (Imagawa y col., 1994). La PRL estimula la síntesis de proteínas, lípidos y carbohidratos de la leche.

Además, la PRL prolonga la vida del cuerpo lúteo, posee varias de las acciones metabólicas de la GH, estimula el desarrollo de los órganos sexuales masculinos y tiene acción gonadotrófica sobre los ovarios de algunos mamíferos. Durante el embarazo se produce un aumento de la PRL.

La PRL en los roedores es crucial en el mantenimiento y actividad secretora del cuerpo lúteo después del apareamiento (Morishige y Rothchild, 1974) y regula el comportamiento reproductivo, influencia la construcción de nidos, la limpieza de las crías y la postura durante la alimentación (Bridges, 1985; Bridges y col., 1996, Lucas y col., 1998). En el humano, los niveles elevados de la PRL se asocian con reacciones psicósomáticas como la pseudo-preñez (Sobrinho, 1993), estimulan la función testicular en la mayoría de los mamíferos, regulan el metabolismo de las células de Leydig (Nag y col., 1981) y aumentan el número de receptores de LH (Dombrowicz y col., 1992). PRL y LH disminuyen la actividad de la aromataasa (Papadopoulos y col., 1986), aumentando la esteroidogénesis y el número de receptores de andrógenos (Purvis y col., 1979; Calandra y col., 1982; Barañao y col., 1981). La PRL incrementa el número de receptores de FSH en las células de Sertoli (Guillaumot y col., 1996) y de los lípidos totales en las células germinales (Gunasekar y col., 1991). En la rata, la PRL junto a los andrógenos, aumenta el peso de la próstata y de las vesículas seminales (Thomas y col., 1976; Negro-Villar y col., 1977). Además, la PRL modula la actividad de la ornitina decarboxilasa en las vesículas seminales (González y col., 1994). En hámsteres han sido descritos procesos neuroendocrinos asociados a los fotoperíodos inhibitorios y el rol de FSH/PRL en el control de la función testicular (Steger y Bartke, 1991; Chandrashekar y col., 1994).

Los estrógenos afectan la función lactotropa mediante dos mecanismos: **a.** Acción mitogénica directa sobre la pituitaria (Welsch y col., 1971) y **b.** Depresión de la actividad de las neuronas dopaminérgicas tubero-infundibulares (TIDA) del núcleo arcuato que ejercen un control inhibitorio tónico sobre la secreción de PRL (Sarkar y col., 1982). Se ha documentado que el estradiol y la progesterona inhibieron la actividad transcripcional del promotor de PRL en células mamosomatotropas GH3 de ratas (Mijiddorj y col., 2012). La dopamina inhibió los cambios producidos por los estrógenos en la síntesis-secreción de PRL y en la proliferación de lactotropas. La bromocriptina, un agonista dopaminérgico, suprimió la proliferación de las lactotropas. Además, la activación de receptores de dopamina D2 inhibió la función de las lactotropas dependientes de los estrógenos, a través de la atenuación de la transactivación mediada por el receptor estrogénico (Ishida y col., 2013).

La interleuquina 6 (**IL-6**) y el péptido intestinal vasoactivo (**VIP**) se sintetizan en la pituitaria y estimulan la secreción de PRL. Se halló que la IL-6 está implicada en la regulación de la actividad y proliferación de las células VIP y controlaría la PRL actuando sobre el VIP pituitario (Blanco y col., 2013).

La PRL participa en la regulación del transporte de solutos y agua a través de la membrana plasmática (Shennan, 1994). En los peces y sapos reduce la pérdida de iones sodio y la captación de agua (Maetz, 1970; Lüthy y col., 1985). El extremo N-terminal de la PRL genera una familia de péptidos de diferentes PM que actúan en las células endoteliales vasculares, inhibiendo la vasodilatación y la angiogénesis (Clapp, 1987; Clapp y col., 2006). La PRL y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), con inducción de Stat-5, actúan como reguladores autocrinos de las células endoteliales favoreciendo la migración, la invasión y la formación de vasos sanguíneos (Yang y col., 2013).

La PRL tiene un rol clave en la homeostasis del medio interno regulando la respuesta humoral y celular del sistema inmune en condiciones fisiológicas o patológicas, tales como las enfermedades autoinmunes (Neidhart, 1998; Buskila y Shoenfeld, 1996; Shelly y col., 2012). Si bien la PRL estimula los linfocitos T, B, NK y macrófagos, no es esencial para el desarrollo normal del sistema inmune, según lo demostrado en ratones que carecían del gen que codifica el receptor de PRL (Bouchard y col., 1999). La PRL actuaría como un importante mediador en el sistema inmunoneuroendocrino (Goffin y col., 1998).

3.11.3 Eje gonadotropo

Se observa un nivel hipotalámico con factores liberadores (GnRH) e inhibidores (GnIH) de gonadotropinas: hormonas folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH). La GnRH es un neuropéptido de 10 AA que proviene de una molécula de mayor peso molecular. A través de un decapeptido, el sistema nervioso regula la secreción de las gonadotropinas. En los primates, las neuronas secretoras de GnRH se ubican en los núcleos arcuato y ventromedial.

Hay un segundo nivel hipofisario representado por las poblaciones folículotropa-luteinizante secretoras de FSH/LH y un tercer nivel sérico con gonadotropinas circulantes que actúan sobre las gónadas para favorecer la gametogénesis y la secreción de estrógenos, progesterona y andrógenos. Existe un mecanismo de retroalimentación negativo que regula el nivel central (fig. 3.35).

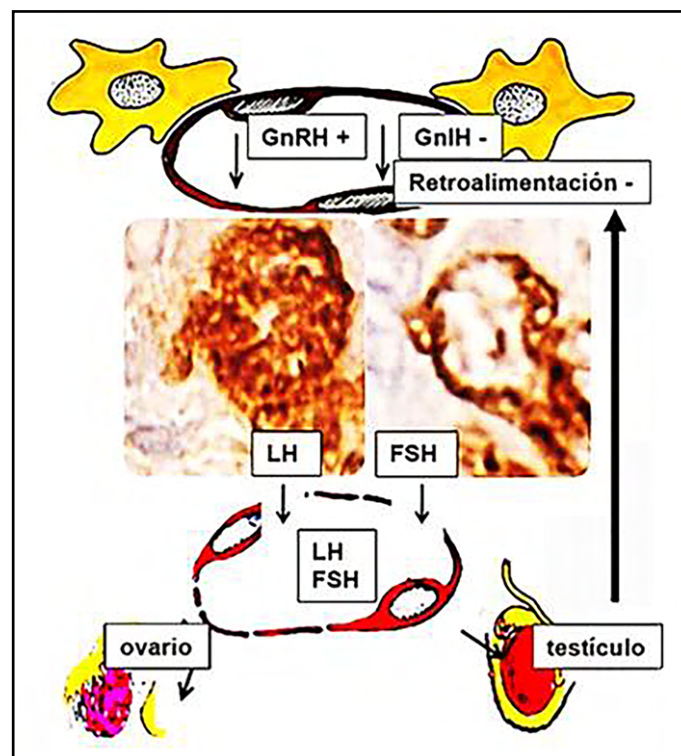


Fig. 3.35 Eje gonadotropo (Cónsole GM).

Hormona folículo-estimulante (FSH): es una glicoproteína (PM 31.500 Da) que posee subunidad α (92 AA) y β (117-121 AA). Los carbohidratos juegan un rol importante en las propiedades de unión y en la activación de fenómenos intracelulares. La FSH estimula la espermatogénesis y ovogénesis. En los ovarios actúa sobre las células de la granulosa, estimulando la síntesis de los estrógenos y el desarrollo folicular. A nivel testicular, la FSH cumple una secuencia de acción: **a.** Unión a la membrana plasmática; **b.** Activación de la adenilciclase; **c.** Acumulación de AMPc intracelular; **d.** Activación de la proteína-quinasa; **e.** Fosforilación

de las proteínas y **f. Transcripción:** con la secuencia: ARN, síntesis proteica y actividad mitótica. La proteína transportadora de andrógenos (ABP) depende de la FSH.

Hormona luteinizante (LH): glicoproteína (PM 28.260 Da) que está constituida por dos cadenas polipeptídicas α (92 AA) y β (110-111 AA). Es denominada la hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH) de Leydig secretoras de testosterona. A nivel ovárico, estimula la secreción de estrógenos en las células de la granulosa y provoca la ruptura folicular con luteinización. La LH desencadena la ovulación e induce el ciclo secretorio, estimulando la secreción de hormonas esteroideas en las células intersticiales ováricas y testiculares.

La GnRH induce la proliferación de las gonadotropas poco diferenciadas y reduce el número de las células muy diferenciadas. La proteína pro-apotótica prohibitina (PHB) se expresó sobre todo en las células gonadotropas poco diferenciadas y sería necesaria para la apoptosis inducida por GnRH (Savulescu y col., 2013). Se han documentado diferencias en el contenido pituitario y sérico de LH/FSH entre ratones normales y mutantes. Dichos cambios estuvieron asociados a alteraciones en la actividad transcripcional de los genes de las subunidades de gonadotropina que se reflejaron en la estructura del RER y de los gránulos secretorios de las gonadotropas (Abel y col., 2013). La señalización celular de la GnRH condujo a la activación de las quinasas reguladas por señales extracelulares que provocan cambios en la fertilidad (Bliss y col., 2010). Se hallaron efectos directos de la PRL y de la dopamina a nivel de las células gonadotropas y sus interacciones regularon la secreción de las gonadotropinas (Henderson y col., 2008).

Las células FE y gonadotropas son la fuente principal del polipéptido activador de la adenilato ciclasa (PACAP) que actuaría como un regulador autocrino-paracrino de la población gonadotropa. Los cambios en los niveles de expresión del PACAP pituitario podrían contribuir al aumento selectivo de la FSH antes del estro (Winters y Moore, 2011). La GnRH hipotalámica regula la síntesis y secreción de las gonadotropinas en las gonadotropas. Un control adicional es ejercido por el mecanismo de retroalimentación de los esteroides gonadales y los factores intrapituitarios como activina y folistatina. A su vez, el PACAP regula la expresión de las gonadotropinas a través de la modulación de la GnRH y estimula la secreción de la folistatina en las células FE. A la inversa, la GnRH aumenta la capacidad del PACAP para regular la función gonadotropa (Halvorson, 2014; Zheng y col., 2014).

El tratamiento neonatal con dietilestilbestrol afectó la función reproductiva de los ratones machos y hembras, pudiendo masculinizar el hipotálamo de los ratones hembras, al actuar sobre la secreción de LH en las gonadotropas (Ishikawa y col., 2014). Las activinas son proteínas multifuncionales y miembros de la superfamilia del factor transformante β (TGF- β). Están implicadas en la regulación de las funciones de las gonadotropas y en el crecimiento de las células tumorales, siendo moduladas por la folistatina local y por la inhibina gonadal que sigue las vías de la retroalimentación (Bilezikjian y col., 2012).

La hormona gonadotropina inhibitoria (GnIH) fue identificada como un neuropéptido hipotalámico inhibidor de la secreción de gonadotropinas. Se halla en los cuerpos neuronales del núcleo dorso-medial de los mamíferos y su expresión está regulada por la melatonina y el estrés, dando información ambiental al eje reproductivo. Tiene potencial terapéutico en enfermedades del ciclo reproductivo: pubertad precoz, endometriosis, fibromas uterinos y neoplasias de próstata y mama (Ubuka y col., 2012; Clarke y Parkington, 2014).

3.11.4 Eje tirotropo

Presenta un nivel hipotalámico con factores liberadores (TRH) e inhibidores (TIH) de tirotrófina (TSH). La TRH es un tripéptido originado por hidrólisis y acción enzimática de una pre-prohormona de alto peso molecular. Dicho péptido es filogenéticamente muy antiguo. Estimula la secreción de TSH e inhibe la liberación de ACTH. Tiene una secreción pulsátil con picos entre 90 y 180 minutos. La hipertermia ambiental inhibe el eje tiroideo y el frío lo estimula. Los cuerpos neuronales con TRH se ubican en el núcleo paraventricular y recibe conexiones desde un complejo que regula el apetito. Hay un segundo nivel hipofisario representado por la población tirotropa secretora de TSH y un tercer nivel sérico con TSH circulante que actúa sobre los folículos tiroideos para favorecer la síntesis y liberación de las hormonas tiroideas (T3-T4) que activan el metabo-

mo basal. La estimulación de los receptores en las células foliculares estimula: **a.** La síntesis de la tiroglobulina; **b.** La secreción de la tiroglobulina hacia la luz folicular; **c.** La iodinación de la tiroglobulina del coloide; **d.** La reabsorción de la tiroglobulina iodada hacia las células foliculares y su escisión por acción lisosómica y **e.** La secreción de T3 y T4 que son transportadas hacia los capilares sanguíneos. Además, existe un mecanismo de retroalimentación negativo que regula el nivel hipotálamo-hipofisario (**fig. 3.36**).

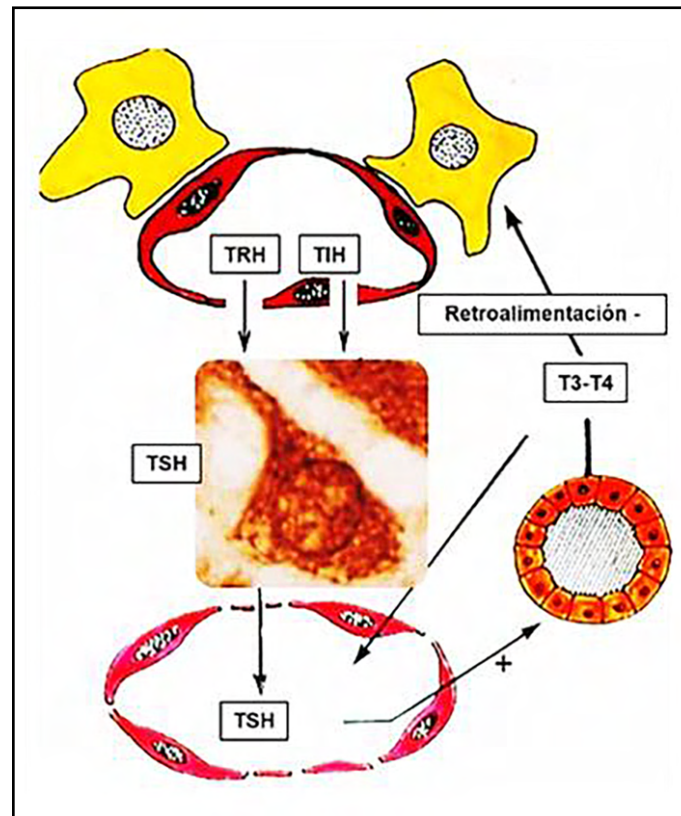


Fig. 3.36 Eje tiroideo (Cónsole GM).

Tirotrofina (TSH): glicoproteína de PM 28.000 Da, constituida por 2 subunidades (α - β). Los grupos determinantes de la especificidad inmunológica residen en la subunidad β . Actúa sobre las células del folículo tiroideo: **a.** Induce aumento de la vascularización y del tamaño glandular que determina incremento de la altura de las células del epitelio folicular y descenso de la tiroglobulina; **b.** Libera hormonas tiroideas por proteólisis y **c.** Incrementa la presencia de vesículas de reabsorción en la periferia del coloide folicular.

Su secreción es pulsátil pero debido a la escasa magnitud de los picos, sus variaciones circulantes son poco marcadas. La somatostatina inhibe el pulso de TSH y los glucocorticoides suprimen la secreción de β TSH.

Fliers y col. (2006) estudiaron la respuesta de la tiroides aplicada a la anatomía funcional y analizaron los receptores de las isoformas de hormona tiroidea en el hipotálamo y en la glándula pituitaria humana y sus estudios han sugerido un modelo innovador respecto al mecanismo de retroalimentación de las hormonas tiroideas.

3.11.5 Eje corticotropo

Se observa un nivel hipotalámico con factores liberadores (CRH) e inhibidores de corticotrofina (ACTH) (factor aún no identificado). La CRH es muy importante en la respuesta al estrés. Las neuronas de los núcleos supraóptico y paraventricular envían axones a la eminencia media para liberar CRH

al sistema porta, provocando la secreción de ACTH en un segundo nivel hipofisario representado por la población corticotropa. Existe un segundo nivel hipofisario formado por la población corticotropa secretora de ACTH y un tercer nivel sérico con ACTH circulante que actúa sobre la corteza adrenal para favorecer la síntesis y liberación de corticoides. Los glucocorticoides actúan sobre el metabolismo aumentando la síntesis proteica y la gluconeogénesis hepática. Además, existe un mecanismo de retroalimentación negativo que regula el nivel superior (fig. 3.37).

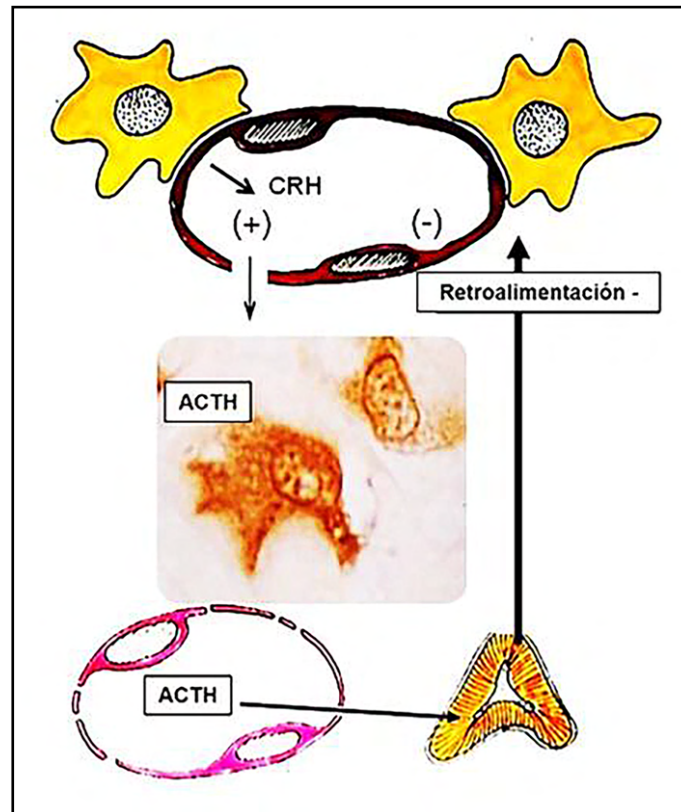


Fig. 3.37 Eje corticotropo (Cónsole GM).

Corticotrofina (ACTH): es una proteína constituida por 39 aminoácidos (PM 4.507 Da) y se produce por clivaje de la proopiomelanocortina (POMC). La porción amino terminal de la molécula de ACTH contiene la información necesaria para ejercer su acción biológica. Tiene ritmo circadiano y comienza a elevarse después de las 4 de la mañana y sus valores mínimos se presentan al final de la tarde.

La ACTH: **a.** Estimula la conversión del colesterol en pregnenolona en la corteza suprarrenal; **b.** Incrementa la síntesis de glucocorticoides; **c.** Promueve la lipólisis en las células adiposas; **d.** Permite la captación de glucosa y aminoácidos en las células musculares. **e.** Activa la secreción de insulina/GH con blanco en la corteza adrenal, estimulando la síntesis de glucocorticoides.

Un estímulo intenso que llega a la corteza cerebral relaja la inhibición de la formación reticular o del sistema límbico sobre los centros hipotalámicos y secreta factor liberador de ACTH (CRF) que actúa sobre las corticotropas. La ACTH y las lipoproteínas se generan de un precursor común de alto PM, con características de una glicoproteína: la proopiomelanocortina (POMC). Las lipoproteínas se relacionan con las endorfinas y las encefalinas. Gracias a la ingeniería genética y a la biología molecular se han estudiado los mecanismos de síntesis y regulación del receptor de ACTH. En la enfermedad de Addison (insuficiencia córtico-suprarrenal crónica primaria) se hallan altos valores de ACTH. La pigmentación de la piel en dicha enfermedad se produce porque ACTH, α y χ lipotrofina actúan sobre receptores de melanocortina tipo 1 y se expresan en melanocitos y queratinocitos.

El cortisol, principal glucocorticoide adrenal, tiene un rol clave en la regulación de la ACTH. Se demostró el ritmo circadiano de la ACTH sérica en pacientes (Lakatua y col., 1984) y se comunicó un aumento de los glucocorticoides séricos durante la senectud (Tang y Phillips, 1978; Brett y col., 1983).

La hormona liberadora de corticotrofina (CRH) desempeña un papel esencial en el ajuste del eje adrenal y actúa sobre las células corticotropas. Se han clarificado mecanismos moleculares precisos en la acción de la CRH que permitirán la intervención farmacológica sobre los tejidos neuroendocrinos (Bonfiglio y col., 2011). Los glucocorticoides resultan fundamentales para responder al estrés físico o emocional. El hipotálamo detecta los cambios en el entorno interno o externo que alterarían la homeostasis y responde liberando CRH y vasopresina a nivel de las neuronas parvocelulares que se proyectan luego a la eminencia media. Estas neurohormonas se liberan en la hipófisis anterior y las corticotropas liberan ACTH a la circulación sistémica para actuar sobre la corteza suprarrenal iniciando la síntesis de cortisol (Papadimitriou y Priftis, 2009). La leptina, secretada en el tejido adiposo, controlaría la actividad del eje hipotálamo-pituitario-adrenal en el estrés (Roubos y col., 2012).

3.11.6 Población folículo-estelar

Tienen funciones paracrinas sobre las células secretoras de las hormonas hipofisarias, con liberación de IL-6 y de factores de crecimiento endotelial y fibroblástico. También presentan funciones de sostén, fagocitosis, respuesta inmune y control de iones y líquido intersticial. Esta población celular resulta muy interesante para el estudio de las interconexiones paracrinas intrapituitarias.

Referencias

- Abel MH et al. An investigation into pituitary gonadotrophic hormone synthesis, secretion, subunit gene expression and cell structure in normal and mutant male mice. *J Neuroendocrinol* 25(10):863-875, 2013.
- Allaerts W, Carmeliet P, Denef C. New perspectives in the function of pituitary folliculo-stellate cells. *Mol Cell Endocrinol* 71(2):73-81, 1990.
- Allaerts W et al. Heterogeneity of pituitary folliculo-stellate cells: implications for interleukin-6 production and accessory function in vitro. *J Neuroendocrinol* 1:43-53, 1997a.
- Allaerts W et al. A population of interstitial cells in the anterior pituitary with a hematopoietic origin and a rapid turnover: a relationship with folliculo-stellate cells? *J Neuroimmunol* 78(1):184-197, 1997b.
- Allaerts W et al. Influence of folliculo-stellate cells on biphasic luteinizing hormone secretion response to gonadotropin-releasing hormone in rat pituitary cell aggregates. *Eur J Endocrinol* 130(5):530-539, 1994.
- Asa SL, Kovacs K. Utilization of electron microscopic techniques in the in vitro study of adenohipofyseal function and regulation. *Microsc Res Tech* 20(2):136-151, 1992.
- Asa SL, Tannenbaum GS. Cell-cell communication in the pituitary: orchestrator of pulsatile growth hormone secretion? *Trends Endocrinol Metab* 17(8):299-300, 2006.
- Avtanski D et al. Both estrogen receptor α and β stimulate pituitary GH gene expression. *Mol Endocrinol* 28(1):40-52, 2014.
- Baes M, Allaerts W, Denef C. Evidence for functional communication between folliculo-stellate cells and hormone-secreting cells in perfused anterior pituitary cell aggregates. *Endocrinology* 120(2):685-691, 1987.
- Bilezikjian LM et al. Cell-type specific modulation of pituitary cells by activin, inhibin and follistatin. *Mol Cell Endocrinol* 359(1-2):43-52, 2012.
- Bilezikjian LM, Vale WW. The local control of pituitary by activin signaling and modulation. *Open Neuroendocrinol* 4:90-101, 2011.
- Birzniece V, Zutanto S, Ho KK. Gender difference in the neuroendocrine regulation of growth hormone axis by selective estrogen receptor modulators. *J Clin Endocrinol Metab* 97(4): E521-527, 2012.
- Blanco EJ et al. The activity and proliferation of pituitary prolactin-positive cells and pituitary VIP-positive cells are regulated by interleukin 6. *Histol Histopathol* 28(12):1595-1604, 2013.
- Bliss SP, Navratil AM, Xie J, Roberson MS. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Front Neuroendocrinol* 31(3):322-340, 2010.
- Blumenfeld Z, Kuhn RW, Jaffe RB. Corticotropin-releasing factor can stimulate gonadotropin secretion by human fetal pituitaries in superfusion. *Am J Obstet Gynecol* 154(3):606-612, 1986.
- Bonfiglio JJ et al. The corticotropin-releasing hormone network and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: molecular and cellular mechanisms involved. *Neuroendocrinology* 94(1):12-20, 2011.
- Brett LP et al. The pituitary-adrenal response to novel stimulation and ether stress in young adult and aged rats. *Neurobiol Aging* 4(2):133-138, 1983.
- Chauvet N et al. Characterization of adherens junction protein expression and localization in pituitary cell networks. *J Endocrinol* 202(3):375-387, 2009.
- Childs GV. Division of labor among gonadotropes. *Vitam Horm* 50:215-286, 1995.
- Clark RG, Carlsson LM, Robinson IC. Growth hormone secretory profiles in conscious female rats. *J Endocrinology* 114(3):399-407, 1987.
- Clarke IJ, Parkington HC. Gonadotropin inhibitory hormone (GnIH) as a regulator of gonadotropes. *Mol Cell Endocrinol* 385(1-2):36-44, 2014.
- Cónsole GM et al. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 95(3):157-166, 1997c.
- Cónsole GM, Gómez Dumm CLA. Histoquímica, inmunohistoquímica y ultraestructura de la adenohipofisis. *Temas de Histología y Embriología animal*. Ed. Inarbite, Buenos Aires, 2: 153-173, 1997a.

- Cónsole GM, Jurado SB, Gómez Dumm CLA. Morphologic aspects of paracrine interactions between endocrine and folliculostellate cells in the rat adenohypophysis. *Appl Immun Molec Morphol* 7(2):142-149, 1999.
- Cónsole GM, Vidal MS. Atlas de Histología. Ed. Journal, 2016.
- Cónsole GM. The pituitary gland: normal and pathologic morphology. EDULP y Red de Universidades Nacionales (REUN). EDULP, 2017.
- Davis SW et al. Pituitary gland development and disease: from stem cell to hormone production. *Curr Top Dev Biol* 106:1-47, 2013.
- Denef C et al. Cell-to-cell communication in peptide target cells of anterior pituitary. *Methods Enzymol* 168:47-71, 1989.
- Deschepper CF et al. Evidence that the gonadotrophs are the likely site of production of angiotensin II in the anterior pituitary of the rat. *Endocrinology* 119(1):36-43, 1986.
- Duvilanski BH et al. Role of nitric oxide in control of prolactin release by the adenohypophysis. *Proc Natl Acad Sci* 92(1):170-174, 1995.
- Dymshitz J, Laudon M, Ben-Jonathan N. Endothelin-induced biphasic response of lactotrophs cultured under different conditions. *Neuroendocrinology* 55(6):724-729, 1992.
- Falini B et al. Double-labeled antigen method for demonstration of intracellular antigens in paraffin-embedded tissues. *J Histochem Cytochem* 30(1):21-27, 1982.
- Filippa V, Acosta M, Mohamed F. Cellular associations of pituitary gonadotrophs in a rodent (*Lagostomus maximus maximus*) with photoperiod-dependent reproduction. *Tissue Cell* 44(6):351-357, 2012.
- Fletcher WH, Anderson NC, Everett JW. Intercellular communication in the rat anterior pituitary gland. An in vivo and in vitro study. *J Cell Biol* 67(2PT.1):469-476, 1975.
- Fliers E, Unmehopa UA, Alkemade A. Functional neuroanatomy of thyroid hormone feedback in the human hypothalamus and pituitary gland. *Mol Cell Endocrinol* 251(1-2):1-8, 2006.
- Frawley LS, Boockfor FR, Hoefler JP. Identification by plaque assays of a pituitary cell type that secretes both growth hormone and prolactin. *Endocrinology* 116(2):734-737, 1985.
- García-Navarro F et al. Immuno-cytochemical and ultrastructural study of the frog (*Rana pipiens*) pars distalis with special reference to folliculo-stellate cell function during in vitro superfusion. *Cell Tissue Res* 256(3):623-630, 1989.
- García-Tornadu I, Risso T, Perez-Millan MI, Noain D, Díaz-Torga G, Low MJ, Rubinstein M, Becu-Villalobos D. Neurotransmitter modulation of the GHRH-GH axis. *Front Horm Res* 38:59-69, 2010.
- Girod C, Trouillas J, Dubois MP. Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of the anterior lobe in the normal human pituitary. *Cell Tissue Res* 241(3): 505-511, 1985.
- Girod C, Trouillas J. Hypophyse: embriologie, anatomie et histologie. *Encycl Med Chir (Paris, France), Endocrinologie-Nutrition* 10-017-A-10, 24 pp, 1993.
- Godwin AJ et al. In situ regulation of cell-to-cell communication by the cAMP-dependent protein kinase and protein kinase C. *Mol Cell Biochem* 127-128:293-307, 1993.
- Halper J et al. Presence of growth factors in human pituitary. *Lab Invest* 66(5):639-645, 1992.
- Halvorson LM. PACAP modulates GnRH signaling in gonadotropes. *Mol Cell Endocrinol* 385(1-2):45-55, 2014.
- Harrison F, van Hoof J, Vakaet L. The relationship between the folliculo-stellate network and the thyrotropic cells of the avian adenohypophysis. *Cell Tissue Res* 226(1):97-111, 1982.
- Henderson HL, Townsend J, Tortonesi DJ. Direct effects of prolactin and dopamine on the gonadotroph response to GnRH. *J Endocrinol* 197(2):343-350, 2008.
- Herbert DC. Intercellular junctions in the rhesus monkey pars distalis. *Anat Rec* 195(1):1-6, 1979.
- Horn F et al. Tissue-specific gene expression in the pituitary: the glycoprotein hormone alpha-subunit gene is regulated by a gonadotrope-specific protein. *Mol Cell Biol* 12(5):2143-53, 1992.
- Horvath E, Kovacs K, Ezrin C. Junctional contact between lactotrophs and gonadotrophs in the rat pituitary. *IRCS Medical Science* 5:511, 1977.

- Inoue K et al. The structure and function of folliculo-stellate cells in the anterior pituitary gland. *Arch Histol Cytol* 62(3):205-218, 1999.
- Ishida M et al. Activation of D2 dopamine receptors inhibits estrogen response element-mediated estrogen receptor transactivation in rat pituitary lactotrophs. *Mol Cell Endocrinol* 375(1-2):58-67, 2013.
- Ishida M et al. Estrogen actions on lactotroph proliferation are independent of a paracrine interaction with other pituitary cell types: a study lactotroph-enriched cells. *Endocrinology* 148(7):3131-39, 2007.
- Ishikawa M et al. Effects of diethylstilbestrol on luteinizing hormone-producing cells in the mouse anterior pituitary. *Exp Biol Med (Maywood)* 239(3):311-319, 2014.
- Jones TH, Brown BL, Dobson PR. Paracrine control of anterior pituitary hormone secretion. *J Endocrinol* 127(1):5-13, 1990.
- Katayama T et al. Paracrine effect of folliculo-stellate cells on the growth factor-like action of activin A in anterior pituitary cultures. *Endocrinol Jpn* 39(3):289-297, 1992.
- Kikuchi M et al. Immunohistochemical localization of anterior pituitary hormones in S-100 protein-positive cells in the rat pituitary gland. *Cell Tissue Res* 345(3):425-429, 2011.
- Kurono C et al. Septate-like junctions in the normal male rat pituitary gland. *Tissue Cell* 26(6):913-916, 1994.
- Kurono C. Intercellular communications within the rat anterior pituitary: VI. Development of gap junctions between folliculo-stellate cells under the influence of ovariectomy and sex steroids in the female rat. *Anat Rec* 24(3):366-373, 1996.
- Lakatua DJ et al. Circadian endocrine time structure in humans above 80 years of age. *J Gerontol* 39(6):648-654, 1984.
- Le Tissier PR et al. Anterior pituitary cell networks. *Front Neuroendocrinol* 33(3):252-266, 2012.
- Leong DA et al. Enumeration of lactotropes and somatotropes among male and female pituitary cells in culture: evidence in favor of a mammosomatotrope subpopulation in the rat. *Endocrinology* 116(4):1371-78, 1985.
- Levy A. Physiological implications of pituitary trophic activity. *J Endocrinol* 174(2):147-155, 2002.
- Ling N et al. Pituitary FSH is released by a heterodimer of the β -subunits from the two forms of inhibin. *Nature* 321(6072):779-782, 1986.
- Mabuchi Y et al. Sealing of the follicular lumen of the anterior pituitary gland of the male rat. *Tissue Cell* 28(6):631-635, 1996.
- Mabuchi Y et al. Electron microscopic observations of the anterior pituitary gland. Part I. The neurons in the "transitional zone" of the anterior pituitary gland. *Tissue Cell* 40(3):157-166, 2008.
- Mangalam HJ et al. A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev* 3(7):946-958, 1989.
- Matsumoto H et al. Pituitary folliculo-stellate-like cell line (TtT/GF) responds to novel hypophysiotropic peptide (pituitary adenylate cyclase-activating peptide), showing increased adenosine 3', 5'-monophosphate and interleukin-6 secretion and cell proliferation. *Endocrinology* 133(5):2150-55, 1993.
- Mijiddorj T et al. Effects of estradiol and progesterone on prolactin transcriptional activity in somatolactotrophic cells. *Endocr J* 59(10):867-879, 2012.
- Mollard P et al. A tridimensional view of pituitary development and function. *Trends Endocrinol Metab* 23(6):261-269, 2012.
- Morand I et al. Cell-to-cell communication in the anterior pituitary: evidence for gap junction-mediated exchanges between endocrine cells and folliculostellate cells. *Endocrinology* 1996; 137(8):3356-67, 1996.
- Nagy G, Mulchahey JJ, Neill JD. Autocrine control of prolactin secretion by vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology* 122(1):364-366, 1988.
- Nogami H, Yoshimura F. Fine structural criteria of prolactin cells identified immunohistochemically in the male rat. *Anat Rec* 202(2):261-274, 1982.
- O'Halloran CJ et al. The regulation of neuropeptide expression in rat anterior pituitary following chronic manipulation of estrogen status: a comparison between substance P, neuropeptide Y, neurotensin and vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology* 127(3):1463-69, 1990.

- Osuna M et al. Differentiation capacity of native pituitary folliculostellate cells and brain astrocytes. *J Endocrinol* 213(3):231-237, 2012.
- Papadimitriou A, Priftis KN. Regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation* 16(5):265-271, 2009.
- Papka RE, Yu SM, Nikitovitch-Winer MB. Use of immunoperoxidase and immunogold labelling for pituitary hormones and neuropeptides. *Am J Anat* 175(2-3):289-306, 1986.
- Pasolli HA, Torres A, Aoki A. The mammosomatotroph: a transitional cell between growth hormone and prolactin producing cells? An immuno-cytochemical study. *Histochemistry* 102(4):287-296, 1994.
- Peillon F et al. Physiology of the anterior pituitary gland. *Rev Prat* 46(12):1466-71, 1996.
- Pérez-Castro C et al. Cellular and molecular specificity of pituitary gland physiology. *Physiol Rev* 92(1):1-38, 2012.
- Prinz PN et al. Plasma growth hormone during sleep in young and aged men. *J Gerontol* 38(5):519-524, 1983.
- Ray D, Melmed S. Pituitary cytokine and growth factor expression and action. *Endocr Rev* 18(2):206-228, 1997.
- Rosenfeld MG et al. Transcriptional control of cell phenotypes in the neuroendocrine system. *Recent Prog Horm Res* 51:217-239, 1996.
- Rossier J et al. Distribution of opioid peptides in the pituitary: a new hypothalamic-pars nervosa enkephalinergic pathway. *Fed Proc* 39(8):2555-60, 1980.
- Roubos EW et al. Leptin and hypothalamo-pituitary stress axis. *Gen Comp Endocrinol* 177(1):28-36, 2012.
- Rudman D et al. Impaired growth hormone secretion in the adult population: relation to age and adiposity. *J Clin Invest* 67(5):1361-69, 1981.
- Santomé JA, Dellacha J, Paladini AC. Chemistry of growth hormone. *Pharmacol Therap B* 2(3):571-590, 1976.
- Sarkar DK, Gottschall PE, Meites J. Damage of hypothalamic dopaminergic neurons is associated with development of prolactin-secreting pituitary tumors. *Science* 218(4573):684-686, 1982.
- Sato S. Post-natal development, sexual difference and sexual cycle variation of prolactin cells in rats; special reference to the topographical affinity of a gonadotroph. *Endocrinol Jpn* 27(5):573-583, 1980.
- Sato Y et al. Intercellular communications within the rat anterior pituitary. XII: immunohistochemical and physiological evidences for the gap junctional coupling of the folliculo-stellate cells in the rat anterior pituitary. *Tissue Cell* 37(4):281-291, 2005a.
- Sato T et al. Intercellular communications within the rat anterior pituitary. XI: an immunohistochemical study of distributions of S-100 positive cells in the anterior pituitary of the rat. *Tissue Cell* 37(4):269-280, 2005b.
- Savulescu D et al. Gonadotropin-releasing hormone-regulated prohibitin mediates apoptosis of gonadotrope cells. *Mol Endocrinol* 27(11):1856-70, 2013.
- Shelly S, Boaz M, Orbach H. Prolactin and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 11(6-7): A465-470, 2012.
- Shirasawa N et al. Pituitary folliculo-stellate cells immunostained with S-100 protein antiserum in post-natal, castrated and thyroidectomized rats. *Cell Tissue Res* 231(2):235-249, 1983.
- Shirasawa N et al. Intercellular communication within the rat anterior pituitary. XIV: electron microscopic and immunohistochemical study on the relationship between the agranular cells and GnRH neurons in the dorsal pars tuberalis of the pituitary gland. *Anat Rec (Hoboken)* 290(11):1388-98, 2007
- Siperstein ER, Miller KJ. Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* 86(3): 451-486, 1970.
- Sobotta-Welsch. *Histología*. Ed. Panamericana.
- Soji T, Herbert D. Intercellular communications between rat anterior pituitary cells. *Anat Rec* 224(4):523-533, 1989.
- Soji T, Herbert D. Intercellular communications within the rat anterior pituitary gland. II. Castration effects and changes after injection of luteinizing hormone-releasing (LH-RH) or testosterone. *Anat Rec* 226(3):342-346, 1990.
- Soji T et al. Folliculo-stellate cells and intercellular communication within the rat anterior pituitary gland. *Microsc Res Tech* 39(2):138-149, 1997.

- Soji T, Yashiro T, Herbert D. Intercellular communication within the rat anterior pituitary gland. IV. Changes of cell-to-cell communications during pregnancy. *Anat Rec* 233(1):97-102, 1992.
- Stevens A, Lowe J. *Texto y Atlas de Histología*. Ed. Mosby.
- Tang G, Phillips JG. Some age-related changes in pituitary-adrenal function in the male laboratory rat. *J Gerontol* 33(3):377-382, 1978.
- Thapar K, Kovacs K, Laws ER. The classification and molecular biology of pituitary adenomas. *Adv Techn Stand Neurosurg* 22:3-53, 1995.
- Theill LE, Karin M. Transcriptional control of GH expression and anterior pituitary development. *Endocr Rev* 14(6):670-689, 1993.
- Tulipano T et al. Points of integration between the intracellular energy sensor AMP-activated protein kinase (AMPK) activity and somatotroph axis function. *Endocrine* 42(2):292-298, 2012.
- Ubuka T et al. Gonadotropin-inhibitory hormone action in the brain and pituitary. *Front Endocrinol (Lausanne)* 3:148, 2012.
- Vankelecom H, Chen J. Pituitary stem cells: Where do we stand? *Endocrinol Cell Mol* 385(1-2):2-17, 2014.
- Vankelecom H, Gremeaux L. Stem cells in the pituitary gland: a burgeoning field. *Gen Comp Endocrinol* 166(3):478-488, 2010.
- Vila-Porcile E, Olivier L. The problem of folliculo-stellate cells in the pituitary gland. *Ultrastructure of Endocrine Cells and Tissue*. In ed. P. M. Motta. Boston: Martinus Nijhoff 1984: 64.
- Wada I et al. Intercellular communication within the rat anterior pituitary gland. XVI: postnatal changes of distribution of S-100 protein positive cells, connexin 43 and LH-RH positive sites in the pars tuberalis of the rat pituitary gland. An immunohistochemical and electron microscopic study. *Tissue Cell* 46(1):33-39, 2014.
- Welcker JE et al. Insm1 controls development of pituitary endocrine cells and requires a SNAG domain for function and recruitment of histone-modifying factors. *Development* 140(24):4947-58, 2013.
- Welsch CW, Jenkins T, Amenomori Y, Meites J. Tumorous development of in situ and grafted anterior pituitaries in female rats treated with diethylstilbestrol. *Experientia* 27(11):1350-52, 1971.
- Westlund KN, Childs GV. Localization of serotonin fibers in the rat adenohypophysis. *Endocrinology* 111(5):1761-63, 1982.
- Willems C et al. Regeneration in the pituitary after cell-ablation injury: time-related aspects and molecular analysis. *Endocrinology* 157(2):705-721, 2016.
- Winters SJ, Moore JP. PACAP, an autocrine/paracrine regulator of gonadotrophs. *Biol Reprod* 84(5):844-850, 2011.
- Winters SJ, Moore JP. Paracrine control of gonadotrophs. *Semin Reprod Med* 25(5):379-387, 2007.
- Yang X, Meyer K, Frield A. STAT-5 and prolactin participate in a positive autocrine feedback loop that promote angiogenesis. *J Biol Chem* 288(29):21284-96, 2013.
- Yoshimura F, Nogami H. Immunohistochemical characterization of pituitary stellate cells in rats. *Endocrinol Jpn* 27(1):43-51, 1980.
- Zheng W, Grafer CM, Halvorson LM. Interaction of gonadal steroids and gonadotropin-releasing hormone on pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) and PACAP receptor expression in cultured rat anterior pituitary cells. *Reprod Sci* 21(1):41-51, 2014.

CAPÍTULO 4

ULTRAESTRUCTURA HIPOFISARIA

4.1 Estudios ultraestructurales

Balin y Broadwell (1987) estudiaron las membranas de la hipófisis anterior mediante lectina-peroxidasa. Los resultados sugirieron que la lectina se transfiere al complejo de Golgi identificando: plasmalema, sacos trans del Golgi, membranas de los gránulos secretorios y perfiles de exocitosis.

Mason y col. (1988) investigaron el control de la secreción en las células lactotropas, somatotropas y gonadotropas mediante cultivos de la pituitaria anterior. Investigaron los canales iónicos (Ca^{2+} y K^+), los mensajeros y la exocitosis. Kurosumi (1991a) hizo una revisión mediante inmunoelectrónica, clasificando a las células de la pituitaria anterior, de acuerdo a su rol en la secreción hormonal y observó la síntesis de los precursores de las hormonas peptídicas en el retículo endoplásmico rugoso (RER), su transferencia al complejo de Golgi, su procesamiento a través del Golgi y la red trans-Golgi que corresponde al GERL, el movimiento de los gránulos secretorios, los mecanismos de exocitosis y la actividad de los lisosomas relacionada con la crinofagia y el reciclaje de los constituyentes de membrana recuperados.

En otra revisión de Kurosumi (1991b) se remarcó:

1. La importancia de la inmunocitoquímica electrónica para identificar de modo categórico las células adenohipofisarias secretoras de hormonas.
2. Su aplicación en el estudio de los mecanismos de secreción hormonal.
3. El estudio ultraestructural de los organoides celulares.
4. El análisis de la exocitosis, mostrando la vesiculación de la membrana alrededor de los gránulos secretorios hacia dentro o hacia fuera de la membrana plasmática.

Farquhar (1982) investigó el reciclaje de la membrana de las células endocrinas de la pituitaria anterior y su camino desde el plasmalema hacia el complejo de Golgi. Yi y Tang (1991) estudiaron los lisosomas y las vacuolas autofágicas que regulan la secreción de las células endocrinas, mostrando que el aumento de los lisosomas tiene un rol esencial en la regulación del proceso de secreción por medio de la crinofagia. Dubois y Girod (1967) detectaron formaciones coloidales y células ciliadas en la hipófisis anterior del hámster dorado.

Cataldo y Broadwell (1994) investigaron el RER y el glucógeno de las células de la pituitaria anterior en ratones, mediante citoquímica enzimática hallando: **1.** La actividad de la glucosa 6 fosfatasa (G6F) resulta un marcador citoquímico fiable del RER. **2.** El RER se asocia con la cara cis del complejo de Golgi. **3.** Una parte de la G6F derivaría de las reservas de glucógeno. **4.** Las modulaciones en la actividad de la G6F y en el depósito de glucógeno durante el ayuno reflejó una alteración del metabolismo energético.

Guerineau y col. (1997) analizaron cultivos organotípicos de la pituitaria anterior y estudiaron la respuesta a los neuropéptidos hipotalámicos, las comunicaciones intercelulares y la electrofisiología.

Nuestros estudios ultraestructurales en animales controles jóvenes intactos (ratas, ratones, hámsteres y monos) nos han permitido identificar las características principales de las poblaciones adenohipofisarias (*pars distalis*):

4.2 Población somatotropa

Se documentaron tres tipos de somatotropas en la pituitaria anterior de rata, mediante inmunohistoquímica electrónica con oro coloidal:

- **Tipo I** con gránulos secretorios grandes (350 nm).
- **Tipo II** con una mezcla de gránulos grandes y pequeños.
- **Tipo III** con sólo gránulos pequeños (150 nm).

En ratas machos predominaron las células tipo I (68%) y en ratas hembras se detectó un mayor porcentaje (47%) de células tipo II (Kurosumi y col., 1986). Lue y col. (1987) identificaron la GH en las pituitarias de hámster dorado mediante inmunocitoquímica. Las somatotropas se presentaron ovales, con gránulos secretorios de dos rangos (90-150 nm y 280-320 nm), RER con membranas aplanadas paralelas y complejo de Golgi moderadamente desarrollado.

Tachibana y col. (1994) hicieron estudios inmunoelectrónicos de la pituitaria anterior de fetos humanos y detectaron somatotropas de tipo I, II y III.

Tipo I: células pequeñas, redondas, con gránulos secretorios de menor tamaño (268 nm).

Tipo II: poligonales, con gránulos secretorios de tamaño medio (347 nm), RER en laminillas paralelas y complejo de Golgi.

Tipo III: poligonales, grandes, con numerosos y grandes gránulos secretorios esféricos (404 nm).

El tipo I predominó hasta las 20 semanas de gestación y luego aumentaron los tipos II y III. Tipo I: células inmaduras. Tipo II: células intermedias. Tipo III: células maduras.

Nuestros estudios ultraestructurales (Jurado y col., 1998) permitieron observar células ovoideas con núcleos esféricos de cromatina homogénea, finamente granular y filamentos tipo I, correspondientes a citoqueratinas, microtúbulos, centríolos, cilias y lisosomas (**fig. 4.1**).

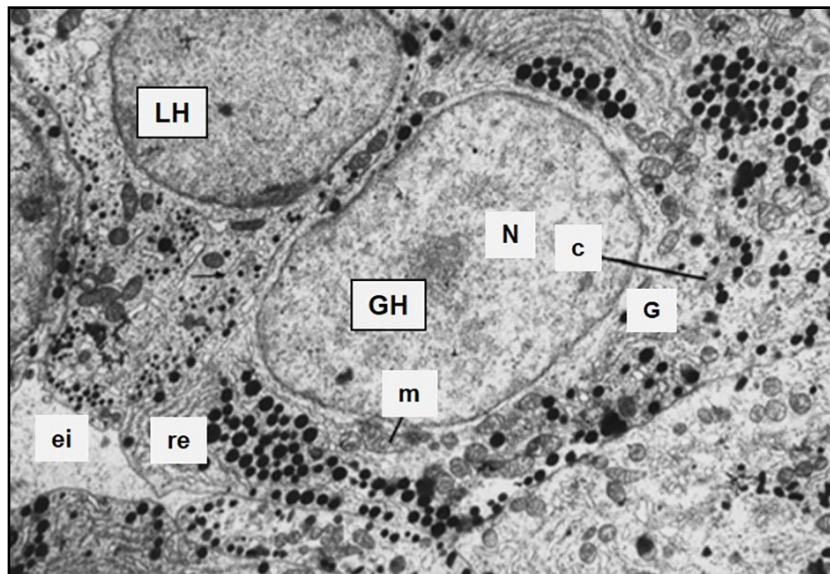


Fig. 4.1. Somatotropa (GH). Núcleo (N), Golgi (G), mitocondrias (m), c: cilias, retículo endoplásmico (re), espacio intercelular (ei) (x 9.000).

En la **fig. 4.2** se observan dos células somatotropas junto a un capilar. Los gránulos secretorios son ovals y electrodensos, con una membrana fina íntimamente aplicada y de difícil visualización. Se distribuyen de modo uniforme en todo el citoplasma y miden de 250 a 500 nm, con un promedio de 400 nm.

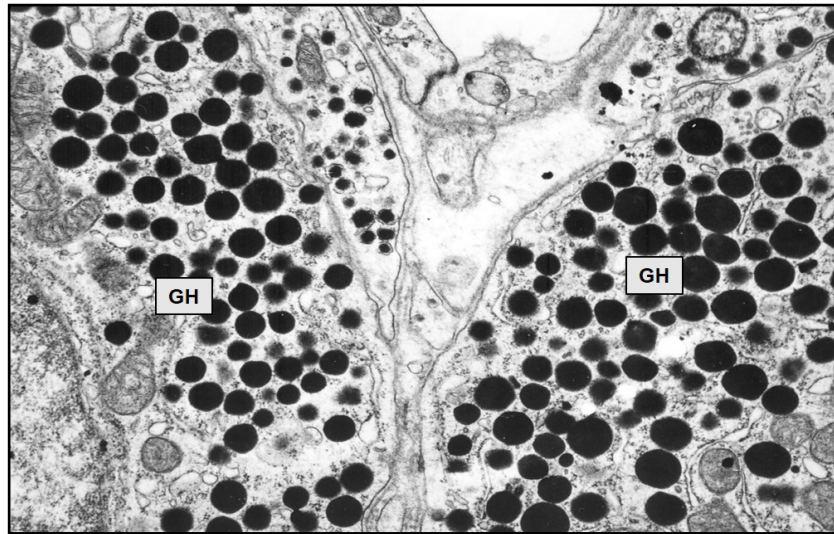


Fig. 4.2. Somatotropas (GH) junto a un capilar. Célula endotelial, espacio intercelular y gránulos secretorios (GH) (x 18.000).

El aparato de Golgi (**fig. 4.3**) es yuxtannuclear y está compuesto por túbulos paralelos con extremos dilatados, vacuolas de amplia luz, vesículas pequeñas y gránulos de secreción con envoltura membrana visible.

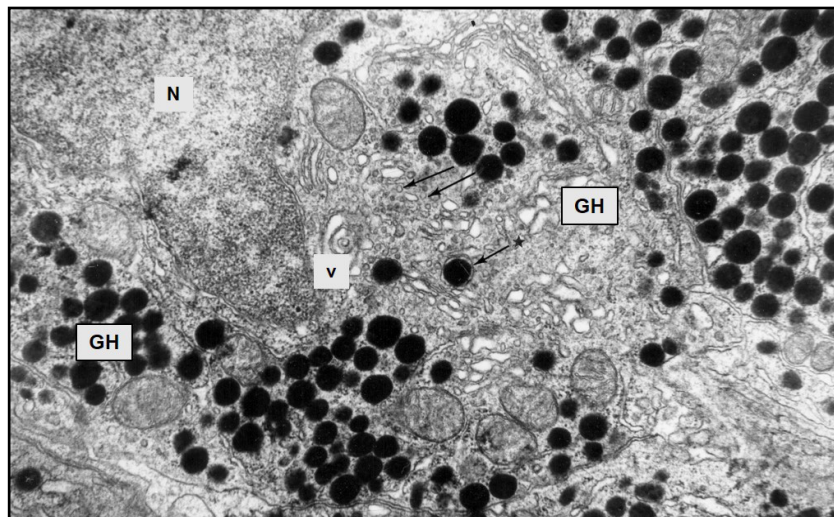


Fig. 4.3. Somatotropa (GH). Núcleo (n). Complejo de Golgi: vacuolas (v); * → Gránulos secretorios con envoltura * → y vesículas (v) (x 15.000).

El RER es un organoide importante en el reconocimiento de este tipo celular y está compuesto por sacos aplanados revestidos por un considerable número de ribosomas. Además, se ven abundantes ribosomas libres en la matriz citoplasmática.

En regla general, se nota una relación inversa entre el desarrollo del RER-Golgi y el número de gránulos secretorios. El depósito granular se traduce en un descenso en la actividad de dichos or-

ganoides. Las mitocondrias son abundantes, alargadas o esféricas, con regular cantidad de crestas espaciadas (fig. 4.4).

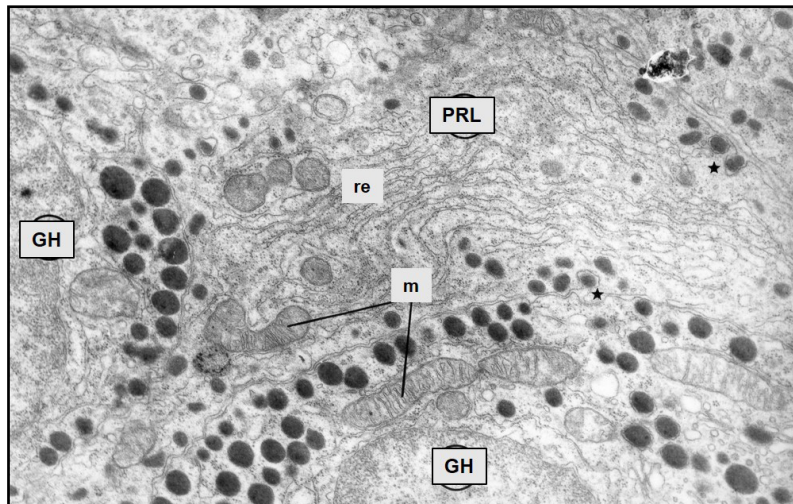


Fig. 4.4. Somatotropas (GH). Retículo endoplásmico (re) y mitocondrias (m) (x 15.000).

Li y col. (1977) hicieron un estudio inmunocitoquímico ultraestructural con peroxidasa en pituitarias de fetos humanos para identificar somatotropas que mostraron un RER laminar, un Golgi prominente y gránulos secretorios de 300 nm promedio.

4.3 Población lactotropa

Farquhar (1977) estudió la secreción y crinofagia en las lactotropas y en 1982 analizó el reciclaje de la membrana en las células endocrinas de la pituitaria anterior mediante los trazadores dextran y ferritina.

Kurosumi (1979) investigó la formación y liberación de los gránulos secretorios por exocitosis en lactotropas de rata con mitosis durante el estro. Los gránulos secretorios inmaduros se mostraban como pequeñas vesículas tubulares, luego las vesículas se desprendieron del Golgi y fueron hacia la periferia celular. El RER presentó vesículas y láminas. Los trazadores fueron tomados por endocitosis, luego aparecieron en las cisternas del Golgi, en los gránulos inmaduros o vacuolas y en los lisosomas.

En 1982, Sasaki y Sano hicieron un estudio morfométrico ultraestructural de las poblaciones somatotropa y lactotropa de ratón y demostraron en las hembras un rápido aumento del número de lactotropas desde el nacimiento hasta los 20 días, mientras las somatotropas aumentaron más progresivamente. A los 60-70 días hubo una meseta hasta la pubertad. Las lactotropas fueron más numerosas en las hembras adultas y las somatotropas en machos adultos.

La ovariectomía indujo un patrón masculino y el estudio mostró que el aumento de lactotropas entre 10-30 días de edad no fue ovario-dependiente.

Fumagalli y Zanini (1985) investigaron la localización ultraestructural de la GH y PRL de pituitarias de vacas, mediante inmunohistoquímica con partículas de oro. Hallaron somatotropas con GH y lactotropas con PRL, así como mamosomatotropas con las dos hormonas.

Las células mixtas envasaron las dos hormonas en diferentes gránulos secretorios, en los mismos gránulos con diferentes partes para cada hormona y entremezcladas en los mismos gránulos. Esto sugiere que en estas células las dos hormonas se procesan en las mismas cisternas del Golgi y que existen mecanismos para clasificarlas.

Smets y col. (1987) analizaron el desarrollo postnatal de las células lactotropas y somatotropas en ratas machos y hembras mediante inmunohistoquímica electrónica. En ratas inmaduras (4-6 semanas de edad) se detectó alta densidad celular de ambos tipos, con la presencia de gránulos secretorios inmaduros (200 nm).

En ratas adultas se vieron dos tipos de lactotropas: con gránulos polimorfos de 500 nm (prevalentes en hembras) y con gránulos esféricos de 200 nm (prevalentes en machos). No se detectaron cambios en las somatotropas durante la maduración.

Sasaki e Iwama (1988) demostraron diferencias según sexo en las lactotropas y las somatotropas de ratón en un estudio IHQ por microscopía óptica y electrónica, hallando en hembras un mayor número de lactotropas tipo I (43%) y un menor porcentaje de somatotropas tipo I (33%). También detectaron lactotropas y somatotropas tipo II (con gránulos redondos pequeños de 100-200 nm), en porcentaje reducido para ambos sexos.

Las somatotropas fueron muy numerosas en machos, mientras las lactotropas representaron un 10 % de las células del parénquima.

Las mamosomatotropas estuvieron muy reducidas (0-0.6%) en ambos sexos.

Nuestro estudio ultraestructural permitió detectar células poligonales elongadas con prolongaciones cortas. Sus núcleos muestran acúmulos de heterocromatina y un nucléolo denso. Se observan gránulos de secreción pleomorfos que pueden ser alargados (en forma de maní) y su tamaño puede oscilar entre 200 y 800 nm, con un promedio de 600 nm (Cónsole y col., 1998) (fig. 4.5).

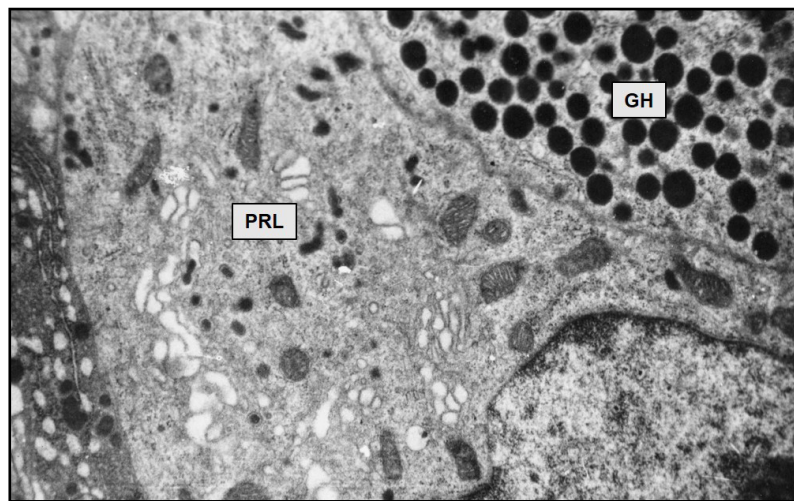


Fig. 4.5. Lactotropa (PRL) (x 10.000).

El aparato de Golgi muestra sacos, vacuolas, microvesículas y gránulos secretorios. Hay vacuolas dilatadas, numerosas microvesículas y gránulos secretorios inmaduros irregulares en la zona golgiana.

La **fig. 4.6** presenta microtúbulos, centríolos, cilias, filamentos intermedios de tipo I y lisosomas.

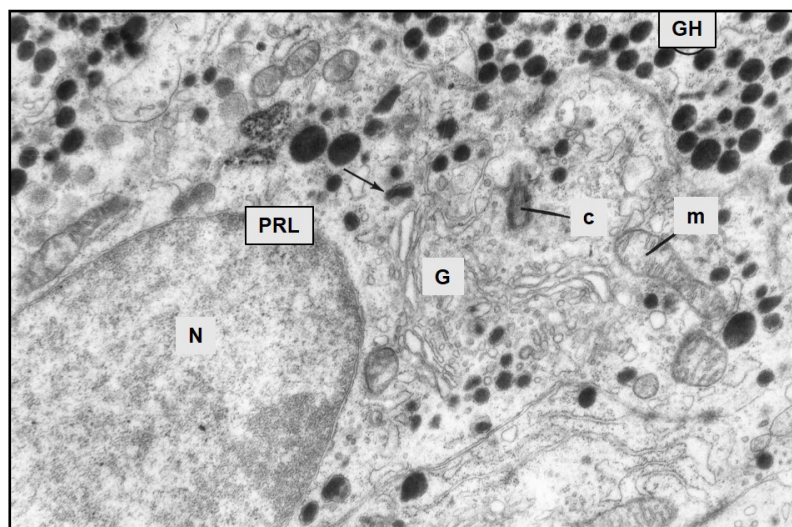


Fig. 4.6. Lactotropa (PRL). Aparato de Golgi (G): gránulos secretorios (→), mitocondrias (m), n: núcleo (n) y cilias (c) (x 15.000).

El RER está constituido por cisternas aplanadas paralelas, en grupos ubicados lateralmente junto a la membrana plasmática y presenta numerosos ribosomas adheridos y libres en el citoplasma. Las mitocondrias muestran crestas espaciadas y matriz densa (**fig. 4.7**).

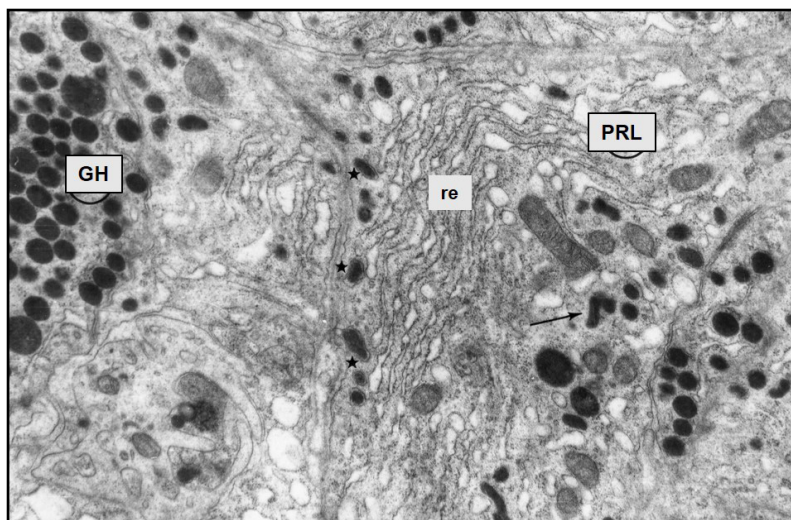


Fig. 4.7. Lactotropa (PRL). Aparato de Golgi (G): gránulos secretorios (→), mitocondrias (m), n: núcleo (n) y cilios (c) (x 15.000).

4.4 Población gonadotropa

En época temprana, Kurosumi y Oota (1968) comunicaron dos tipos de gonadotropas en la pituitaria anterior de rata. Inoue y Kurosumi (1984), usando un método de ferritina para localizar la LH y FSH en la hipófisis de ratas machos, hallaron:

a. LH: en pequeños gránulos secretorios (250-300 nm).

b. FSH: estuvo presente en gránulos secretorios más grandes (500 nm). Algunas células fueron ricas en LH y otras en FSH.

La mayor parte de las gonadotropas contuvieron ambas gonadotropinas (LH y FSH). Inoue y Kurosumi (1989) observaron elementos del Golgi-trans con una cisterna placa de 33 nm de espesor en células secretoras pituitarias hipertrofiadas como las gonadotropas luego de la castración. Kurosumi y col. (1968) analizaron la población gonadotropa mediante inmunocitoquímica electrónica en pituitaria anterior de ratas machos y hembras.

Identificaron un **Tipo I**, con gránulos secretorios grandes (300-700 nm) y pequeños (150-200 nm) y un **Tipo II**, con gránulos secretorios pequeños (100-200 nm).

Los adultos jóvenes machos contuvieron gran número de células Tipo I (90%), mientras que las hembras presentaron más células Tipo II (70%). Estos valores disminuyeron con la edad en machos, en correlación con los valores séricos de FSH y LH.

La célula **Tipo I** contuvo **FSH** y la **Tipo II: LH**. Corroborando nuestras observaciones, García-Ayala y col. (1998) documentaron la presencia de gonadotropas y tirotropas en el pez limón (*Seriola dumerlii*) mediante estudio ICQ y ultraestructural.

Jezirowski y col. (1997) estudiaron la heterogeneidad morfológica y funcional de las gonadotropas de ratas machos, hallando un gran porcentaje de células **LH+**, **FSH+**, **chromogranina+** y un segundo grupo **LH+** con pocos granos. Un tercer grupo **FSH+** pobre en granos y un cuarto grupo de *células en anillo de sello* (gonadectomía) pobres en **chromogranina A**.

Los gránulos grandes fueron **chromogranina A** positivos y los pequeños se presentaron **secretogranina II** positivos.

El aparato de Golgi en las células exocrinas polarizadas tiene una forma de copa y sus caras cóncava y convexa se designan como cis y trans, respectivamente.

Watanabe y col. (2012 y 2014) hallaron un Golgi que no presentó forma de copa sino esférica y su superficie exterior e interior serían cis y trans, respectivamente. El par de centriolos centrales actuarían como un centro organizador de los microtúbulos que se extienden hacia la periferia celular. El seguimiento de la estructura del Golgi de las gonadotropas en diferentes condiciones experimentales sería un método novedoso.

A. Población folículo­tropa.

Muestra células grandes con núcleos esféricos y ligeramente excéntricos (**fig. 4.8**).

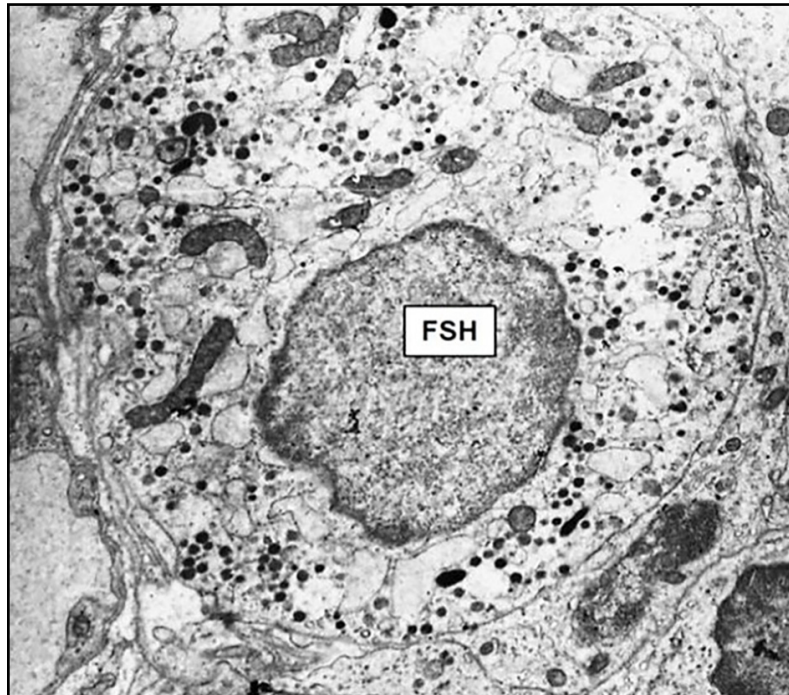


Fig. 4.8. Folículo­tropa (FSH) (x 9.000).

Los gránulos de secreción (diámetro promedio de 250 nm) son redondeados y tienen desigual densidad electrónica. El RER presenta sacos dilatados o cisternas redondeadas, con escasos ribosomas y vesículas. El complejo de Golgi es discreto y las mitocondrias son alargadas, densas y con crestas en serrucho (Jurado, 2003) (**fig. 4.9**).

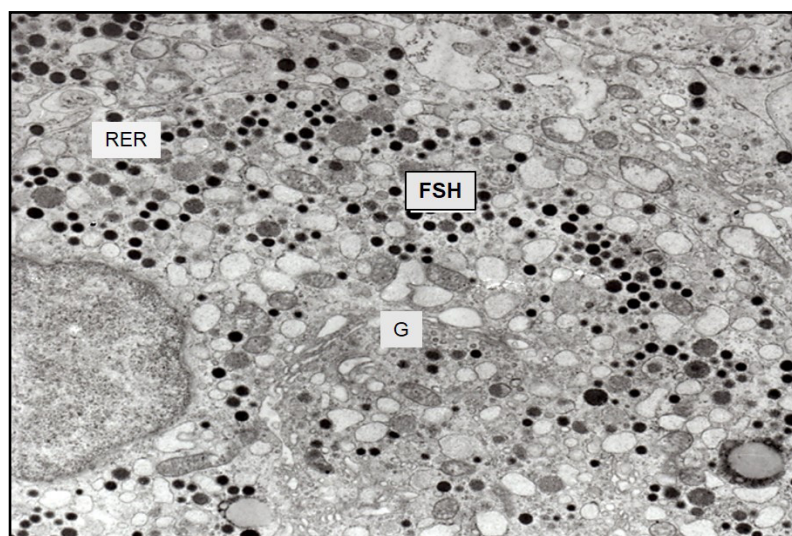


Fig. 4.9. Folículo­tropa (FSH). RER y Golgi (G) (x 15.000).

En la **fig. 4.10** se ve una célula folículo­tropa junto a una somatotropa (GH) y una lactotropa (PRL).

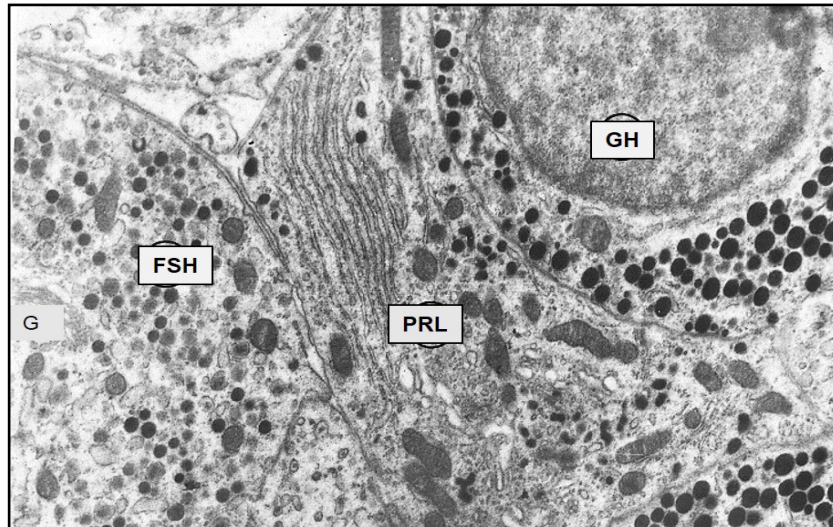


Fig. 4.10. Folículo­tropa (FSH). Golgi (G). Somatotropa (GH) y lactotropa (PRL) (x 12.000).

B. Población luteinizante

Muestra células LH de forma esférica, pero más pequeñas que las células folículo­tro­pas, con núcleos redondeados y gránulos de secreción electro­den­sos (diámetro promedio de 250 nm), de menor tamaño que los de las somatotropas (**fig. 4.11**).

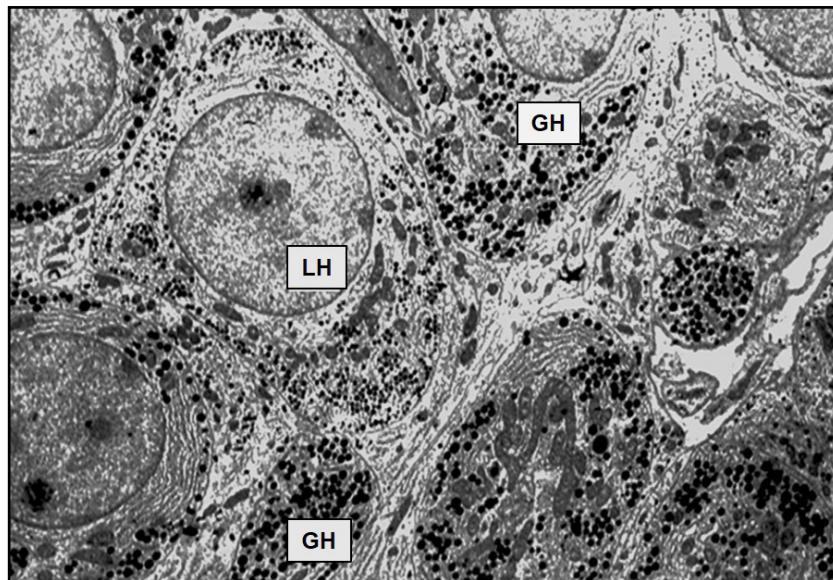


Fig. 4.11. Célula luteinizante (LH). Célula LH entre somatotropas (GH) (x 5.000).

El complejo de Golgi posee un discreto desarrollo y el RER presenta canalículos irregulares (fig. 4.12) (Jurado, 2003).

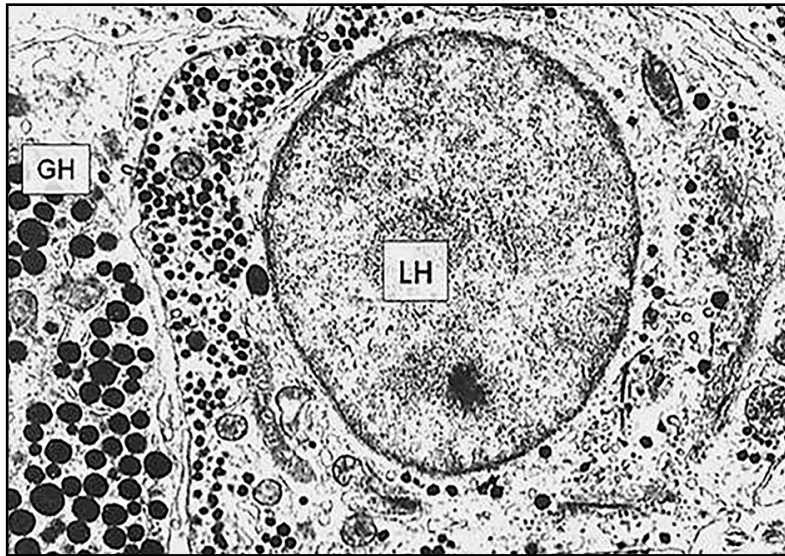


Fig. 4.12. Célula luteinizante (LH) (gránulos pequeños) y somatotropa (GH) (gránulos grandes) (x 8.000).

4.5 Población tirotropa

Girod y Trouillas (1993) describieron las características principales de las células tirotropas y, en especial, sus gránulos secretorios de diámetro medio de 100-150 nm y su hipertrofia en pacientes tiroidectomizados.

Nuestros estudios ultraestructurales muestran células poligonales angulares, pequeñas y escasas. Los gránulos de secreción presentan densidad variable, membrana visible y pueden aparecer cercanos a la membrana plasmática. Tienen un diámetro de 50 a 100 nm, por lo que resultan los gránulos más pequeños entre los diversos tipos celulares.

El RER está formado por sacos aplanados o cisternas con ribosomas adheridos y el complejo de Golgi está reducido. Hay escasas mitocondrias y frecuentes lisosomas de gran tamaño (Jurado, 2003) (fig. 4.13).

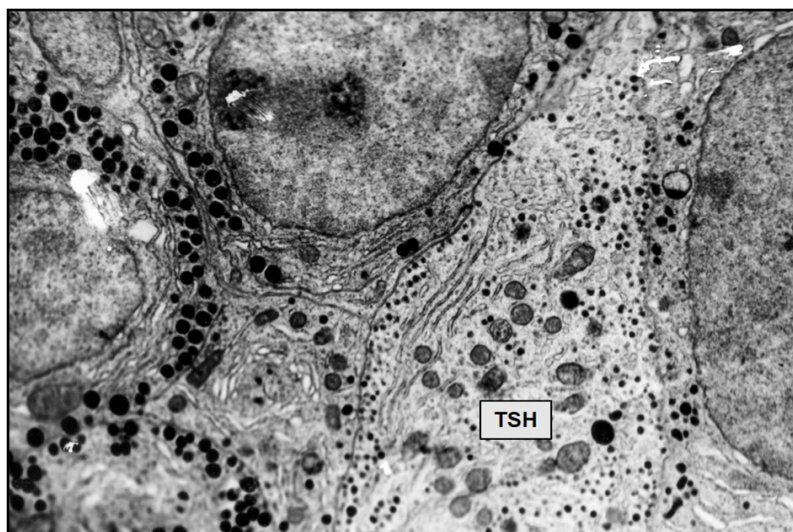


Fig. 4.13. Tirotropa (TSH) (x 11.000).

4.6 Población corticotropa

Wang y col. (1990) investigaron las corticotropas en hámster dorado mediante inmunoelectrónica. Se hallaron corticotropas **A**, **B** y **C**.

Tipo A: células ovales con gránulos secretorios pequeños (158 nm).

Tipo B: células poligonales con gránulos medianos (250 nm). Los gránulos de células A y B se dispusieron en una sola fila junto a la membrana plasmática.

Tipo C: células irregulares con grandes gránulos (380 nm).

Las células **tipo A** representan el tipo inmaduro y evolucionarán hasta convertirse en células tipo C. Una semana después de la adrenalectomía se observó el incremento drástico de las células de tipo C, con dilatación de las cisternas del RER.

Nuestro estudio muestra células grandes, electrolúcidas, irregulares, con prolongaciones y núcleos redondeados con algunas invaginaciones.

Los gránulos de secreción son abundantes y están dispuestos en fila junto a la membrana plasmática, siendo de regular electointensidad y con un diámetro promedio de 250 nm. Están envueltos por una membrana que toma contacto con la membrana plasmática.

También pueden observarse vesículas vacías en dicha localización.

El RER presenta sacos irregulares y existe considerable cantidad de ribosomas libres que forman rosetas.

El complejo de Golgi ocupa una extensa área con túbulos, vacuolas y microvesículas.

Las mitocondrias son esféricas o alargadas y tienen crestas espaciadas (Jurado, 2003) (**fig. 4.14**).

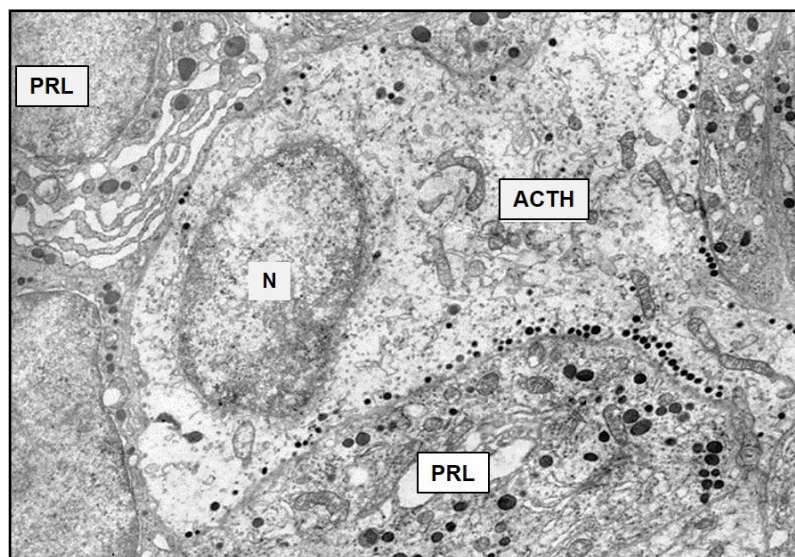


Fig. 4.14. Corticotropa (ACTH). Núcleo (N) (x 15.000).

4.6 Población cromófoba

Presenta células irregulares con núcleos que ocupan la mayor parte de la célula. El citoplasma es escaso y pobre en organoides. Se caracterizan por la ausencia o escasez de gránulos secretorios. Es probable que las células identificadas antiguamente como cromóforas sean realmente acidófilas o basófilas parcialmente degranuladas. Podrían representar estadios inmaduros o formas involutivas de células granulares. Presentan Golgi y retículo endoplásmico rudimentarios, con escasas mitocondrias y lisosomas. Las auténticas cromóforas serían las células madre inespecíficas.

4.7 Población folículo-estelar

La técnica de ICQ de oro coloidal fue aplicada por García-Navarro y col. (1989) durante la perfusión *in vitro* de la *pars distalis* de rana, hallando células FE con numerosos lisosomas, RE-Golgi poco desarrollados y vacuolas fagocíticas con restos de células secretorias. Girod y Trouillas (1993) describieron su morfología ultraestructural y Mabuchi y col. (1996) estudiaron las células FE inyectando peroxidasa marcada a través de la vena femoral de ratas y observaron sustancia marcada en la luz folicular, entre las microvellosidades y alrededor de las cilias. Estos hallazgos sugirieron que las células FE tienen funciones de fagocitosis.

Nuestro estudio ultraestructural (Cónsole y col., 2000) muestra células estrelladas irregulares y sus finas prolongaciones se extienden entre los diversos tipos de células secretorias vecinas. El cuerpo celular contiene un núcleo ovoideo, rico en eucromatina. No presentan gránulos de secreción, el RE es escaso, el Golgi está ligeramente aumentado y las mitocondrias son pequeñas y escasas. Se ven ribosomas libres y lisosomas abundantes. En el polo apical de las células vecinas se encuentran *zónulas ocludens*. Las células FE pueden presentar filamentos intermedios y vacuolas lipídicas, tienden a unirse y delimitan espacios denominados **microfolículos** hacia donde emiten numerosas **microvellosidades**. Se comunicarían entre sí mediante uniones en hendidura (gap) que facilitarían las interconexiones (fig. 4.15).

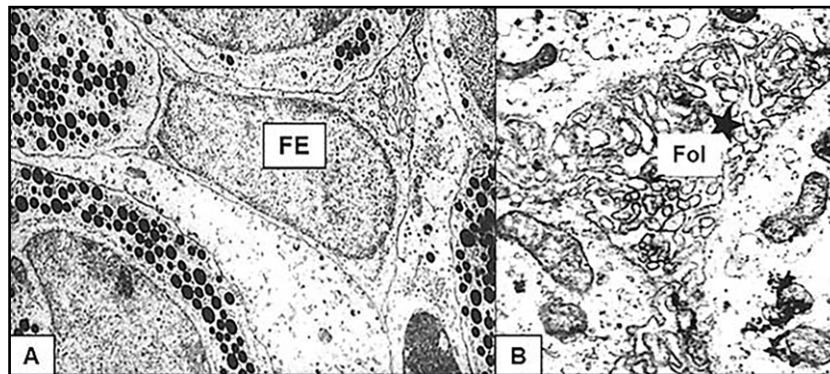


Fig. 4.15 A-B. Célula folículo-estelar (FE). A. (x 18.000). B. F*: folículo, (x 25.000).

4.8 Células plurihormonales

Horvath y Kovacs (1988) identificaron células pituitarias de rata y humanas mediante inmunoelectrónica, detectando células plurihormonales que confirmaron la existencia de mecanismos auto-crinos y paracrinos intrapituitarios. Losinski y col. (1991) utilizaron la técnica de doble marcación con partículas de oro de diferente tamaño y evidenciaron las mamomatomotropas (GH-PRL) en pituitarias intactas, adenomas de ratas y de fetos y adultos humanos. Slater (1991) detectó gránulos monohormonales en la glándula pituitaria humana mediante inmunoelectrónica y gránulos plurihormonales de mayor diámetro. Hirano y Shiino (1993) demostraron mediante inmunocitoquímica electrónica la coexistencia de las gonadotropinas (LH y FSH) con tirotrófina (TSH) en una misma célula. Shino (1993) sintetizó los caracteres ultraestructurales de las células pituitarias, remarcando la morfología de los gránulos secretorios y la colocalización de dos o más hormonas.

4.9 Tamaño de los gránulos secretorios

En la **fig. 4.16** se esquematizan los diferentes gránulos secretorios adenohipofisarios, según forma y tamaño.

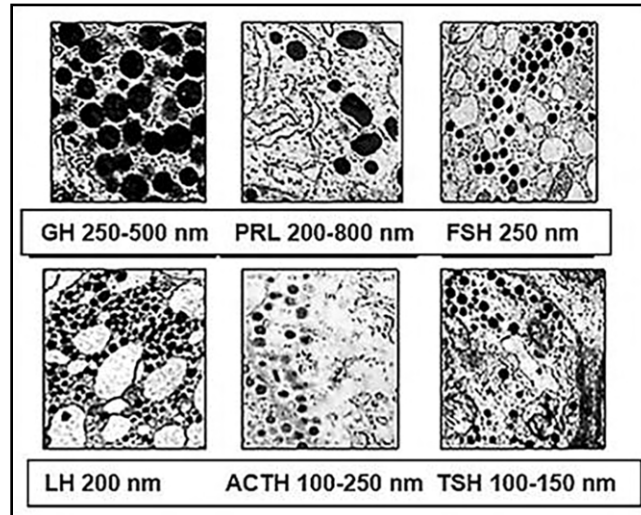


Fig. 4.16. Tamaño y forma de los gránulos secretorios adenohipofisarios.

4.10 *Pars intermedia*

Saland y col. (1990) comunicaron su ultraestructura hallando terminales nerviosas, lisosomas, células con gránulos secretorios con POMC y gran número de quistes coloides.

4.11 *Pars tuberalis*

El estudio ultraestructural permitió identificar diferentes células: gonadotropas, tirotropas y células FE (Asa y col., 1983).

4.12 *Pars neural*

Scheithauer y col. (1992) presentó una revisión de la ultraestructura de la neurohipófisis humana que mostró pituicitos y axones amielínicos que almacenan (cuerpos de Hering) y liberan hormonas producidas a nivel de las neuronas de los núcleos hipotalámicos (vasopresina, oxitocina) mediante el mecanismo de **neurocrinia**.

Referencias

- Asa SL, Kovacs K, Bilbao JM. The pars tuberalis of the human pituitary. A histologic, immunohistochemical, ultrastructural and immunoelectron- microscopic analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 399(1):49-59, 1983.
- Balin BJ, Broadwell RD. Lectin-labeled membrane is transferred to the Golgi complex in mouse pituitary cells in vivo. *J Histochem Cytochem* 35(4):489-498, 1987.
- Cataldo AM, Broadwell RD. Cytochemical staining of the endoplasmic reticulum and glycogen in mouse anterior pituitary cells. *J Histochem Cytochem* 32(12):1285-94, 1984.
- Cónsole GM, Jurado SB, Gómez Dumm CL. Immunohistochemical and ultrastructural age-related changes in rat lactotroph cells. *Biocell* 22(3):197-205, 1998.
- Cónsole GM et al. Immunohistochemical and ultrastructural study of pituitary folliculostellate cells during aging in rats. *Cell Tissues Organs* 167(1):25-32, 2000.
- Dubois P, Girod C. Colloidal formations and ciliated cells in the anterior pituitary of the gold hamster (*Mesocricetus auratus* Waterh.) *C R Scaences Soc Biol* 161(12):2496-2499, 1967.
- Farquhard MG. Membrane recycling in secretory cells: pathway to the Golgi complex. *Ciba Found Symp* 92:157-183, 1982.
- Farquhard MG. Secretion and crinophagy in prolactin cells. *Adv Exp Med Biol* 80:37-94, 1977.
- Fumagalli T, Zanini A. A cow anterior pituitary, growth hormone and prolactin can be packed in separate granules of the same cell. *J Cell Biol* 100(6):2019-24, 1985.
- García-Ayala A et al. Gonadotropic and thyrotropic cells from Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerilii*; Risso 1810) immunocytochemical and ultrastructural characterization. *Anat Rec* 250(4):448-458, 1998.
- García-Navarro F et al. Immunocytochemical and ultrastructural study of the frog (*Rana pipiens*) pars distalis with special reference to folliculo-stellate cell function during in vitro superfusion. *Cell Tissue Res* 256(3):623-630, 1989.
- Girod C, Trouillas J. Hypophyse: embriologie, anatomie et histologie. *Encycl Med Chir (Paris, France), Endocrinologie-Nutrition* 1:1-24, 1993.
- Guerineau NC et al. Organotypic cultures of the anterior pituitary: morphology, physiology and cell-to-cell communication. *J Neurosci Methods* 73(2):169-176, 1997.
- Hirano N, Shiino M. Co-existence of gonadotrophins (FSH, LH) and thyrotrophin (TSH) in single anterior pituitary cell of the musk shrew. *Suncus murinus*. *Cell Tissue Res* 272(2):315-320, 1993.
- Horvath E, Kovacs K. Fine structural cytology of the adenohypophysis in rat and man. *J Electron Microscop Tech* 8(4):401-432, 1998.
- Inoue K, Kurosumi K. Ultrastructural immunocytochemical localization of LH and FSH in the pituitary of the untreated male rat. *Cell Tissue Res* 1984; 235(1):77-83.
- Inoue K, Kurosumi K. Ultrastructural observation of trans-Golgi associated plate-like cisterna in the secretory cells of the rat anterior pituitary gland with special reference to the intracisternal skeleton. *Anat Rec* 225(4):272-278, 1989.
- Jezirowski T, Watanabe T, Bargsten T, Grube D. Heterogeneity of pituitary gonadotrope cells in male rats. *Arch Histol Cytol* 60(4):355-370, 1997.
- Jurado SB, Cónsole GM, Gómez Dumm CL. Sexually dimorphic effects of aging on rat somatotroph cells. An immunohistochemical and ultrastructural study. *J Vet Med Sci (Japan)* 60(6):705-711, 1998.
- Jurado SB. Impacto del envejecimiento sobre las poblaciones adenohipofisarias de la rata. Estudio inmunocitoquímico y ultraestructural. Tesis doctoral. Directores: Dres. Gómez Dumm CLA - Cónsole GM, 2003.
- Kurosumi K, Oota Y. Electron microscopy of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary glands of persistent estrous and diestrous rats. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 85(1):34-46, 1968.

- Kurosumi K, Koyama T, Tosaka H. Three types of growth hormone cells of the rat anterior pituitary as revealed by immunoelectron microscopy using a colloidal gold-antibody method. *Arch Histol Jpn* 49(2):227-242, 1986.
- Kurosumi K. A review: classification and ultrastructure of the anterior pituitary cells and their role in function of hormone secretion. *Kaibogaku Zasshi* 66(5):421-451, 1991a.
- Kurosumi K. Formation and release of secretory granules during mitosis in the anterior pituitary gland. *Arch Histol Jpn* 42(4):481-486, 1979.
- Kurosumi K. Ultrastructural immunocytochemistry of the adenohypophysis in the rat: a review. *J Electron Microsc Tech* 19(1):42-56, 1991b.
- Li JY, Dubois MP, Dubois PM. Somatotrophs in the human fetal anterior pituitary. An electron microscopic-immunocytochemical study. *Cell Tissue Res* 181(4):545-552, 1977.
- Losinski NE, Horvath E, Kovacs K, Asa SL. Immunoelectron microscopic evidence of mammosomatotrophs in human adult and fetal adenohypophyses, rat adenohypophyses, and human and rat pituitary adenomas. *Anat Anz* 172(1):11-16, 1991.
- Lue CM et al. Immunocytochemical identification of growth hormone cells in the adenohypophysis of golden hamster. *Proc Natl Sci Coun Repub China* 11(3):253-259, 1987.
- Mabuchi Y et al. Sealing of follicular lumen of the anterior pituitary gland of the male rat. *Tissue Cell* 28(6):631-635, 1996.
- Mason WT et al. Control of secretion in anterior pituitary cells-linking ion channels, messengers and exocytosis. *J Exp Biol* 139:287-316, 1988.
- Saland LC, Samora A, Desai S. Ultrastructure of the pituitary intermediate lobe in aging rats. *Anat Rec* 227(1):97-103, 1990.
- Sasaki F, Iwama Y. Sex difference in prolactin and growth hormone cells in mouse adenohypophysis: stereological, morphometric, and immuno-histochemical studies by light and electron microscopy. *Endocrinology* 123(2):905-912, 1988.
- Sasaki F, Sano M. Role of the ovary in the sexual differentiation of prolactin and growth hormone cells in the mouse adenohypophysis: a stereological morphometric study by electron microscopy. *J Endocrinol* 93(1):117-121, 1982.
- Scheithauer BW, Horvath E, Kovacs K. Ultrastructure of the neuro-hypophysis. *Microsc Res Tech* 20(2):177-186, 1992.
- Shiino M. Morphology and electron microscopic structures of pituitary gland. *Nihon Rinsho* 51(10):2517-2523, 1993.
- Slater M. Plurihormonality in the secretory granules of the normal human pituitary. An immunoelectron microscopic study. *Experientia* 47(3):267-270, 1991.
- Smets T et al. Postnatal development of growth hormone and prolactin cells in male and female rat pituitary. An immunocytochemical light and electron microscopic study. *J Histochem Cytochem* 35(3):335-341, 1987.
- Tachibana T, Ito T, Kwon OC. Immunoelectron microscopic study of the GH cells in the anterior pituitary gland of normal human fetus. *Anat Rec* 239(2):177-184, 1994.
- Wang SM et al. An immunoelectron microscopic study of corticotrophs in the golden hamster. *Anat Embryol (Berl)* 182(6):539-545, 1990.
- Watanabe T et al. Functional implications of the Golgi and microtubular network in gonadotropes. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 385(1-2):88-96, 2014.
- Watanabe T et al. A unique ball-shaped Golgi apparatus in the rat pituitary gonadotrope: its functional implications in relation to the arrangement of the microtubule network. *J Histochem Cytochem* 60(8):588-602, 2012.
- Yi J, Tang XM. Lysosomes in the regulation of hormone secretion in endocrine cells. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao* 24(3):203-213, 1991

Principales mecanismos de la tumorigénesis hipofisaria

- 5.1 Mutaciones génicas.
- 5.2 Desregulación del ciclo celular (ciclinas).
- 5.3 Factores hipotalámicos, intrapituitarios y/o periféricos.
- 5.4 Factores angiogénicos.

5.1. Mutaciones génicas

Se han identificado **genes** implicados en las enfermedades hereditarias que manifiestan tumores hipofisarios, tales como: *neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1)*, *complejo de Carney*, *síndrome de McCune-Albright*, *síndrome MEN1-like* y *adenoma familiar aislado*. Se sabe que varios **genes** están asociados con los síndromes de tumores pituitarios familiares: **MEN1**, **CDKN1B**, **PRKAR1A**, **GNAS**, **SDHx** y **AIP**. Los tres primeros genes están asociados con una variedad de patologías extrapituitarias (ej. hiperparatiroidismo primario con MEN1). Por el contrario, las mutaciones del *aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP)* parecen ocurrir en el contexto de adenomas hipofisarios familiares aislados, en especial en los somatotropinomas (Elston y col., 2009).

Se registraron mutaciones del gen **AIP** en el 20% de los *adenomas pituitarios familiares aislados (FIPA)*, de **USP8** y **CABLES1** se detectaron en corticotropinomas, de **BRAF** en craneofaringiomas papilares y de **CTNNB1** en craneofaringiomas de tipo adamantinoma. Es evidente que las variantes de un solo nucleótido y las pequeñas mutaciones de inserción/delección del ADN no pueden explicar toda la tumorigénesis hipofisaria. Se necesitan análisis integrados que incluyen la secuenciación del genoma completo, el número de copias y los análisis de variación estructural, la secuenciación del ARN y los análisis epigenómicos, para definir aún más el panorama genómico (Shen y col., 2019).

El conocimiento de dichas alteraciones génicas en la tumorigénesis proporciona nuevas estrategias para el tratamiento de los tumores hipofisarios. La predicción del comportamiento agresivo en los adenomas hipofisarios sigue siendo un desafío. Para su detección, se han desarrollado biomarcadores como: **FGFR4**, **MMP**, **PTTG**, **Ki-67**, **p53** y **deleciones en el cromosoma 11** (Mete y col., 2012).

Los modelos experimentales comprobaron que la pituitaria es muy sensible a la alteración genética de los *reguladores del ciclo celular*, como la proteína del retinoblastoma (**pRB**) o el inhibidor del ciclo celular **p27 (Kip1)**. Se sugirió que estos reguladores influirían en la biología de las células progenitoras y en la homeostasis pituitaria. Además, se demostró la capacidad transformante de la **securina** y del *gen transformador del tumor pituitario (PTTG)* (Quereda y col., 2009).

El 95% de los adenomas hipofisarios surgen esporádicamente sin una mutación predisponente hereditaria, mientras que el 5% de los casos pueden surgir en un entorno familiar, ya sea aislado (adenoma

hipofisario aislado familiar o FIPA) o como parte de un síndrome. La FIPA es causada (15-30% de todas las familias) por la inactivación de mutaciones en el gen **AIP** que causa un exceso de GH. La vía del AMPc también se ve afectada por otras afecciones que predisponen a los tumores pituitarios, incluido el *acrogigantismo* ligado al cromosoma X causado por duplicaciones del gen **GPR101**. La activación de mutaciones en mosaico en el gen **GNAS**, que codifica la proteína estimuladora **Gα**, causa el *síndrome de McCune-Albright*, mientras que las mutaciones inactivadoras en 1α de la proteína quinasa A, representan la causa genética más frecuente del *complejo de Carney* (Pepe y col., 2019) (**fig. 5.1**).

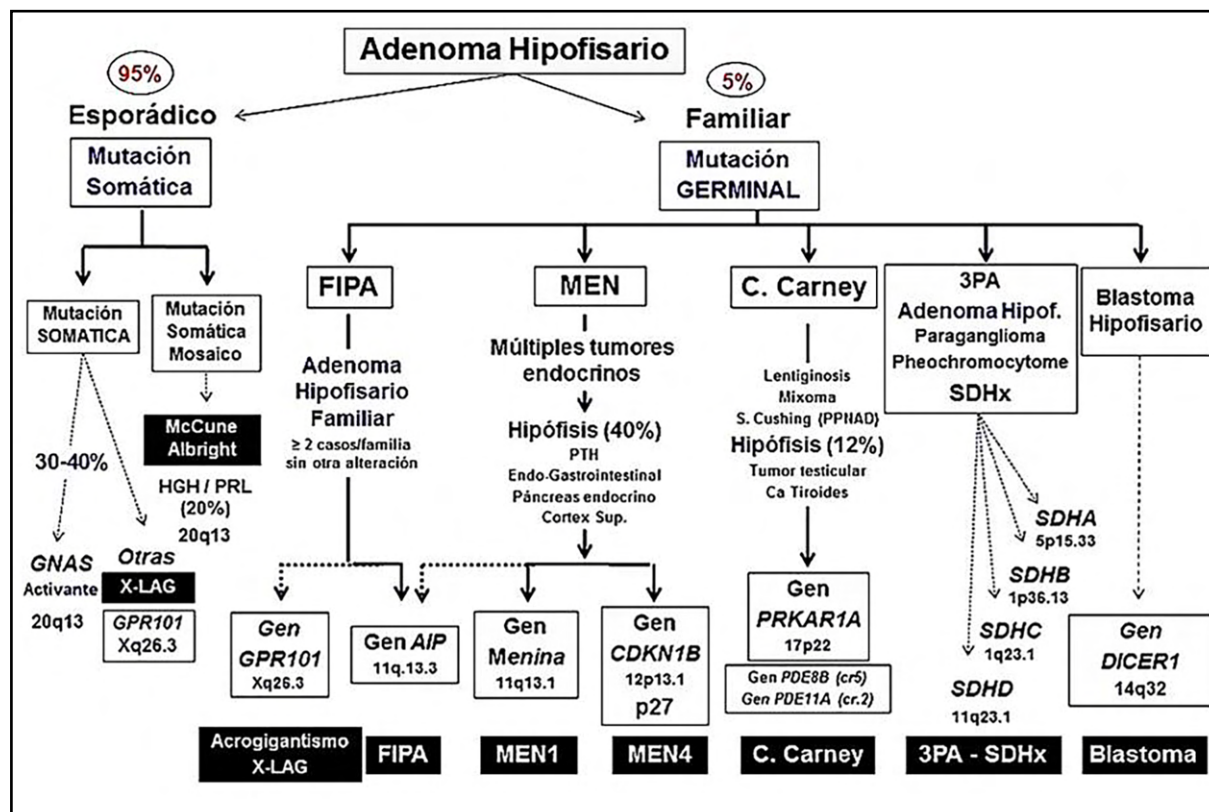


Fig. 5.1 Mutaciones genéticas en adenomas hipofisarios (www.endocrinologiapediatrica.org).

En los adenomas hipofisarios existe expresión génica alterada, mutaciones somáticas, cambios epigenéticos y microARN anormales. La aparición de mutaciones de **GNAS** en una etapa poscigótica conduce al síndrome de *McCune-Albright*, una enfermedad que causa hiperfunción endocrina y tumores en varios órganos, incluida la hipófisis. Los adenomas hipofisarios familiares se presentan como parte de un síndrome que afecta a otros órganos, como en el **MEN1** o el *complejo de Carney*, o se presentan con adenomas hipofisarios como en el adenoma hipofisario aislado familiar (**FIPA**) que se explica en el 20% de los pacientes por mutaciones de la línea germinal en la proteína de interacción del receptor de hidrocarburos arilo (**AIP**) (supresor tumoral), mientras que hasta la fecha no se ha identificado ninguna anomalía genética en la mayoría de las familias. Comprender el proceso tumorigénico en pacientes con **FIPA** con **AIP** positivos y negativos podría representar un mejor diagnóstico y tratamiento para casos familiares y esporádicos (Gadelha y col., 2013).

Se ha demostrado que las mutaciones de la línea germinal **AIP** se asocian con la aparición de grandes adenomas hipofisarios que ocurren a una edad temprana. Las mutaciones de **AIP** suelen asociarse con somatotropinomas, pero también con prolactinomas, adenomas hipofisarios no funcionantes y enfermedad de Cushing. El *gigantismo* es una característica particular de las mutaciones de **AIP** y ocurre en más de un tercio de los pacientes afectados de somatotropinoma. Se han evaluado más de 200 familias **FIPA** y se abordaron pacientes portadores de mutaciones de **AIP** en diferentes poblaciones con adenomas hipofisarios (Beckers y col., 2018).

Wierinckx y col. (2007) estudiaron prolactinomas y los clasificaron en *no invasivos*, *invasivos*, *agresivos-invasivos*. Hallaron 9 genes implicados: invasión (**ADAMTS6**, **CRMP1** y **DCAMKL3**), proliferación (**PTTG**, **ASK**, **CCNB1**, **AURKB** y **CENPE**) y diferenciación pituitaria (**PITX1**) que muestran una expre-

sión diferencial en los tres grupos de tumores. Estos análisis histológicos y transcriptómicos combinados han permitido mejorar el diagnóstico de los prolactinomas agresivos.

La patogenia de los adenomas hipofisarios incluye alteraciones en la regulación del ciclo celular y en la señalización del factor de crecimiento, que se deben principalmente a cambios epigenéticos. Las mutaciones somáticas y en la línea germinal ocurren con menos frecuencia. Las mutaciones de **GNAS** en somatotropinomas y **GPR101** y **USP8** en corticotropinomas que surgen en la edad embrionaria temprana pueden conducir a un mosaicismo somático que afecta a la glándula pituitaria (Caimari y col., 2016). En los tumores hipofisarios esporádicos, las alteraciones en el número de copias van desde casi ninguna hasta una inestabilidad generalizada del genoma, mientras que la microduplicación del cromosoma Xq26.3, que contiene el gen **GNAS**, define el *acrogigantismo* ligado al cromosoma X. Los craneofaringiomas papilares están definidos por mutaciones en **BRAF**, mientras que las alteraciones de la β -catenina caracterizan a los craneofaringiomas adamantinomatosos (Bi y col., 2018).

Las células madre pituitarias adultas (CEP) se ha descrito en sistemas murinos mediante experimentos de rastreo de linaje genético y perfiles celulares completos. Se propuso que las CEP desempeñan un papel en la tumorigénesis hipofisaria, tanto en adenomas como en craneofaringiomas adamantinomatosos (Carrero y col., 2017). Se confirmó la hipótesis de que las células madre cancerosa (CSC) desempeñan un papel fundamental en la aparición del adenoma hipofisario, así como la existencia de un vínculo entre el proceso de transición epitelial a mesenquimal y la formación de CSC en el epitelio (Caffarini y col., 2018)

Los genes diana **Zac1** tienen un papel como factor de transcripción y juegan un rol importante en el desarrollo, maduración y tumorigénesis hipofisaria. **Zac1** controla la proliferación celular y la síntesis de hormonas. La pérdida de expresión se produce con frecuencia en los adenomas hipofisarios, en particular en los tumores no funcionantes. La inhibición de la vía de **PI3K** por agentes terapéuticos, como los análogos de somatostatina, regulan positivamente la expresión de **Zac1** que actúa como un mediador esencial de los efectos antiproliferativos de este tratamiento y se correlaciona con un resultado exitoso en pacientes con acromegalia (Theodoropoulou y col., 2010).

Las aberraciones genéticas, la estimulación de **GNAS**, la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos de arilo (**AIP**) y el gen transformador de tumores hipofisarios (**PTTG**) se encuentran entre los eventos más importantes de la tumorigénesis hipofisaria. Se evaluaron somatotropinomas y adenomas no funcionantes para detectar mutaciones en **GNAS** y **AIP**, y expresión génica de **AIP** y **PTTG**. Se registraron 27% de mutaciones **GNAS** en somatotropinomas y 4.8% en los adenomas no funcionantes. La sobreexpresión de **PTTG** y la subexpresión de **AIP** se hallaron en casi todos los casos. Sin embargo, las mutaciones en **GNAS** y la expresión anormal de **PTTG** y **AIP** no tuvieron ningún impacto en las características del tumor y en los resultados del tratamiento (Foltran y col., 2018).

5.2 Desregulación del ciclo celular

El ciclo celular es el proceso por el que una célula se divide en dos células hijas y consta de cuatro fases: **G1**, **S**, **G2** y **M** (fig. 5.2).

- **G1** y **G2**: son denominadas «huecos», del inglés “gaps”. Esto se refiere al hecho de que nada demasiado obvio ocurre en el núcleo. Sin embargo, las células están muy activas, crecen y se preparan para la división.

Fase G1: la célula se prepara para dividirse. Ocurre el crecimiento de la célula, producto de la síntesis de ARN y proteínas. Transcurre entre el final de una división y el comienzo de la síntesis del ADN. Duración: 6 a 12 horas. La célula somática dobla su tamaño durante esta etapa debido a la continua síntesis de sus componentes. La célula puede continuar el ciclo celular o salir a **G0**, sufrir diferenciación y pasar a la senescencia o morir.

Fase S: se produce la replicación o **síntesis del ADN**. Como resultado se obtienen cromosomas formados por dos cromátidas idénticas. La duplicación del ADN provoca la consiguiente duplicación de las proteínas nucleares. Duración: entre 6 y 8 horas.

Fase G2: continúa la producción de proteínas y ARN. Toda esta etapa tiene lugar en los centríolos y condensa el material genético. Duración: 3 a 4 horas.

Fase M: se produce la **mitosis**. Es decir, la célula reparte las dos copias de su material genético entre sus dos células hijas. Después de haber completado la fase M, se obtienen dos células.

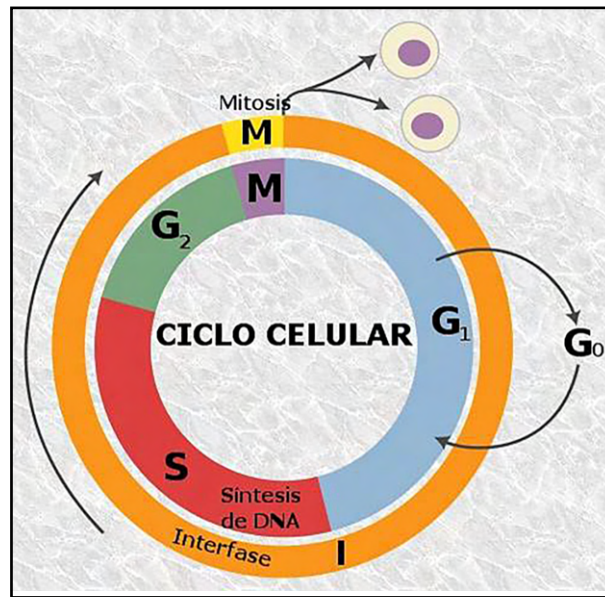


Fig. 5.2 Ciclo celular (slideshare).

Fase G₁: la **ciclina D** activa **CDK4/6** para fosforilar e inactivar parcialmente a **pRB**. Pasado el punto de restricción, el **complejo ciclina-CDK2** fosforila e inactiva a **pRB**.

Pasaje G₂/M: la **ciclina B** se acopla a **CDK1** para activar el complejo promotor de la metafase.

Pasaje metafase-anafase: los cromosomas se alinean y se produce la degradación del **PTTG1** y de la **ciclina B** que marca la salida de la mitosis (fig. 5.3).

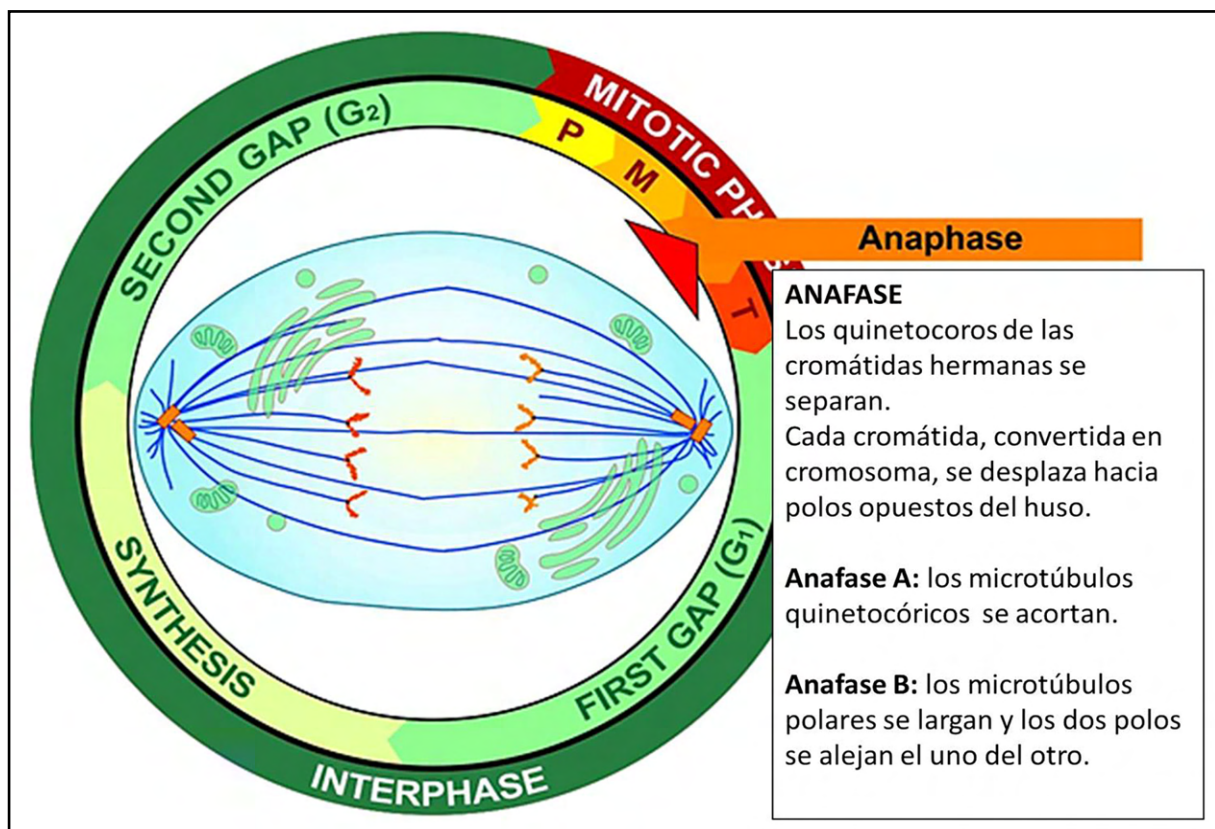


Fig. 5.3 Pasaje de metafase a anafase (slideshare).

La progresión del ciclo celular está controlada mediante la tasa de síntesis/degradación y la fosforilación/desfosforilación de las proteínas reguladoras. El avance a través de las distintas fases del ciclo está controlado por la activación y degradación de una serie de **ciclinas** y sus correspondientes *quinasas dependientes de ciclinas* (**CDK**) (Morgan, 2007; Rieder, 2011). Existen cuatro **CDK** involucradas en la progresión del ciclo celular: tres **CDK** interfásicas (**CDK2, CDK4, CDK6**) y una **CDK** mitótica (**CDK1**) (Malumbres y Barbacid, 2005). Las ciclinas son unidades reguladoras de los complejos **ciclina-CDK**. La actividad de las **CDK** está controlada por la unión a reguladores negativos (inhibidores de **CDK**: **CKI**), por la fosforilación de residuos específicos y por la desfosforilación inhibitoria, mediada por las fosfatasas de la familia **CDC25**. Se ha informado sobreexpresión de **CDC25** en un número significativo de cánceres humanos (Boutros y col., 2007).

El inicio de la replicación del ADN presenta reguladores clave del ciclo celular, incluidas las quinasas dependientes de ciclina (**CDK**) y el complejo promotor de anafase/ciclosoma (**APC/C**). El disparo de origen solo puede ocurrir cuando el **APC/C** está inactivo y las **CDK** se activan. Este mecanismo de dos pasos asegura que ningún origen pueda disparar más de una vez en un ciclo celular. Las **CDK** contribuyen a la inhibición del ensamblaje pre-RC. La replicación del ADN causa la inactivación de los complejos **ciclina-CDK** en fase **S** (Diffley, 2004).

La entrada mitótica, un punto crítico para mantener la estabilidad genética, está gobernada por el complejo **ciclina B/quinasa**. Se desconocen los factores clave que regulan la activación de **CDK1** en las células humanas. La inducción de **CDK2-dn** podría inhibir la actividad de **CDC25B** y fomentar la fosforilación de **CDK1^{tyr}** dentro de la fase **S**. La reducción de la expresión de **CDK1** retrasa la entrada mitótica sin alterar la actividad de **CDC25B/C**. Se sugiere que los complejos de **ciclina A/CDK2** son reguladores clave de la activación de **CDC25** y **CDK1** en células humanas. Esta vía parece estar desregulada comúnmente en las neoplasias (Mitra y Enders, 2004).

En ausencia de señales mitogénicas, las células se encuentran en una fase de reposo denominada **G0**. En el inicio del ciclo, las señales mitogénicas inducen la expresión de las ciclinas de tipo **D** (**D1, D2 y D3**), que se activan **CDK4** y **CDK6**, promoviendo la progresión a través de la fase **G1**. En **G1** existe un punto de control, que se conoce como *punto de restricción* y a partir del cual el ciclo puede continuar en ausencia de la señal mitogénica inicial. Los principales sustratos de las **CDK** en la fase **G1** son los miembros de la familia de la proteína del retinoblastoma (**pRB**): **RB1** y **RB2**. Los complejos ciclina **D-CDK4/6** median su fosforilación parcial, permitiendo la liberación y activación de los factores de transcripción **E2F**, necesarios para inducir la expresión de las **ciclinas tipo E** (**E1 y E2**) y **tipo A**, encargadas de activar a **CDK2**. El complejo ciclina **E-CDK2** fosforila a las proteínas **pRB** para su completa inactivación, lo que permite a la célula superar el punto de restricción y progresar hacia la fase **S** (Doonan y col., 2009).

El ciclo celular está regulado por la fosforilación, a través de la actividad de las quinasas dependientes de ciclina (**CDK**) y la degradación de proteínas, que ocurre a través de ubiquitina ligasas como los complejos **SCF** (SKP1-CUL1-F-box protein) y **APC/C** (anafase- promotor del complejo/ciclosoma). El complejo **SCF** permanece activo a lo largo del ciclo celular, reclutando sustratos a una enzima **E2** por medio de una de tres proteínas **F-box**, denominadas **SKP2, FBW7** y **βTrCP** que están emergiendo como actores importantes en la biogénesis del cáncer debido a la proteólisis desregulada de sus sustratos (Fresh y Pagano, 2008).

La acción de los complejos activadores **ciclina-CDK** a lo largo del ciclo se contrarresta por los **CKI** (inhibidor). Mientras que las proteínas **INK4** se unen a **CDK4** y **CDK6**, la familia de proteínas **Cip/Kip** se une a los complejos **ciclina-CDK**, formando complejos triméricos inactivos. Las **ciclinas tipo B** sintetizadas en la fase **G2** forman el complejo **ciclina B-CDK1** o **factor promotor de la mitosis**, para facilitar la transición **G2/M**. La activación del complejo **ciclina B-CDK1** induce la condensación cromosómica, la rotura de la membrana nuclear, el ensamblaje del huso mitótico y la alineación de los cromosomas en la placa metafásica. La entrada en mitosis también requiere la inactivación de la fosfatasa **PP2A-B55δ** para permitir el aumento de la fosforilación de los sustratos mitóticos de **CDK1** (Hara y col., 2012).

Las etapas finales de la mitosis comienzan en anafase, cuando el huso mitótico forma los cromosomas duplicados. La salida mitótica se completa mediante el desmontaje del huso y el empaquetado de los cromosomas en los núcleos hijos. Dos mecanismos principales gobiernan la progresión a través de la mitosis tardía: la desfosforilación de *sustratos de quinasa dependiente de ciclina (CDK1)* y la destrucción de los sustratos del *complejo promotor de anafase (APC)* (Sullivan y Morgan, 2007).

Los eventos que controlan la división celular están gobernados por la degradación de diferentes proteínas reguladoras por la vía dependiente de **ubiquitina**. La unión de una cadena de poliubiquitina a un sustrato por una **ubiquitina-ligasa** se dirige a este sustrato para la degradación por el **proteasoma 26S**. Dos ubiquitina ligasas diferentes juegan un papel importante en el ciclo celular: el **SCF** (Skp1/Cullin/F-box) y el complejo promotor de anafase (**APC**) (Castro y col., 2005). La falta de regulación de la actividad de la proteína quinasa o los niveles de expresión puede causar enfermedades humanas (Lu y Hunter, 2009).

El punto de control de ensamblaje del huso (**SAC**) es un dispositivo de seguridad que garantiza la fidelidad de la separación cromosómica en la mitosis. El **SAC** previene la separación errónea de cromosomas que causa la aneuploidía. Su disfunción está implicada en la tumorigénesis. Los análisis moleculares se hacen sobre la compleja interacción de las proteínas del punto de control con los quinetocoros, estructuras que median la unión de los microtúbulos del huso a los cromosomas en la mitosis (Musacchio y Salmon, 2007).

El último paso irreversible tiene lugar en la transición de metafase a anafase. En este punto, los pares de cromátidas hermanas alineadas se dividen y se separan. Durante la metafase, la cohesión entre las cromátidas hermanas es mantenida por el complejo de **cohesinas**. En anafase se inicia por la escisión proteolítica de la subunidad **Scc1** de la cohesina por una proteasa denominada **separasa**. Como resultado de esta división, el complejo de cohesina se destruye, lo que permite que el huso tire de las cromátidas hermanas hacia las mitades opuestas de la célula. La actividad de la separasa está regulada por la **securina PTTG1**, la **ciclina B1** y la **fosfatasa PP2A**. Satisfecho el punto de control **SAC**, **CDC20** activa al **APC/C**, que promueve la degradación de **securina PTTG1** y **ciclina B1**, liberando a la separasa para facilitar la separación de las cromátidas hermanas. En ese momento, la degradación de la **ciclina B** inactiva a **CDK1**, promoviendo la salida de la mitosis (Uhlmann, 2001).

5.3 Factores hipotalámicos, intrapituitarios y/o periféricos

La base molecular de la tumorigénesis pituitaria, sugiere que diversas *hormonas hipofisiotrópicas y factores de crecimiento* desempeñarían un rol como promotores del crecimiento de las células neoplásicas. La *hormona liberadora de GH (GHRH)* estimula la proliferación celular. La falta de inhibición dopaminérgica de las lactotropas y la falta de supresión por retroalimentación de las hormonas suprarrenales, gonadales o tiroideas, están implicadas en la tumorigénesis, a través de mecanismos estimulantes hipotalámicos. Sin embargo, la mayoría de los tumores hipofisarios no se asocian con hiperplasia subyacente. Se identificó la sobreexpresión de factores de crecimiento y sus receptores, como **EGF**, **TGF α** y **VEGF** en los adenomas hipofisarios y se implicó la reducción de la **folistatina** en los gonadotropinomas. Además, la expresión aberrante de miembros de la familia del *factor de crecimiento fibroblástico (FGF)* se describió en los adenomas hipofisarios (Ezzat, 2001).

La glándula pituitaria experimenta cambios plásticos reversibles en el crecimiento celular que conducen a *hiperplasia, involución o adenomas benignos* que surgen de células hipofisarias funcionantes (Melmed, 2003). Es fundamental comprender los mecanismos moleculares de la **tumorigénesis pituitaria** que han permitido el desarrollo de marcadores de la agresión tumoral. Los tumores hipofisarios causan daño por *hipersecreción hormonal* o por su *crecimiento expansivo sobre estructuras encefálicas vitales*. La proliferación e hipersecreción hormonal descontrolada pueden estar mediadas por *factores hipotalámicos, intrapituitarios y/o periféricos*. En la patogenia de los tumores hipofisarios participan *hormonas, factores de crecimiento y vías de señalización* que pueden provocar la desregulación del ciclo celular, activar oncogenes o causar la pérdida de genes supresores tumorales (Melmed, 2011).

Los *factores de transcripción pioneros* tienen roles clave en el desarrollo como reguladores del destino celular. Una pequeña fracción tiene la capacidad para acceder a sitios del ADN genómico diana incrustados en la llamada heterocromatina cerrada, donde desencadenan la remodelación de la cromatina que pasa de reprimida a activa. Durante el desarrollo de la hipófisis, el único pionero con un papel bien documentado es **Pax7** que especifica el destino de las células melanotrópicas del lóbulo intermedio. Los pioneros reprograman la expresión génica, por lo que están asociados con la tumorigénesis. La sobreexpresión o las translocaciones cromosómicas conducen a la producción de pioneros implicados en diferentes neoplasias (Harris y col. 2021).

La disregulación de las **vías de señalización** que gobiernan la biología de las lactotropas contribuye a la tumorigénesis de los *prolactinomas*, lo que conduce a un estado de hiperprolactinemia patológica. Los prolactinomas causan hipogonadismo, infertilidad, osteoporosis y efectos de masa tumoral. Aunque se han propuesto mutaciones individuales como posibles fuerzas impulsoras de la tumorigénesis del prolactinoma en humanos, no se ha identificado clínicamente una sola mutación como factor causante de la mayoría de los prolactinomas (Cabin-Allyson y col., 2015).

5.3.1 Ciclinas

- **Ciclinas en el ciclo celular (fig. 5.4).**

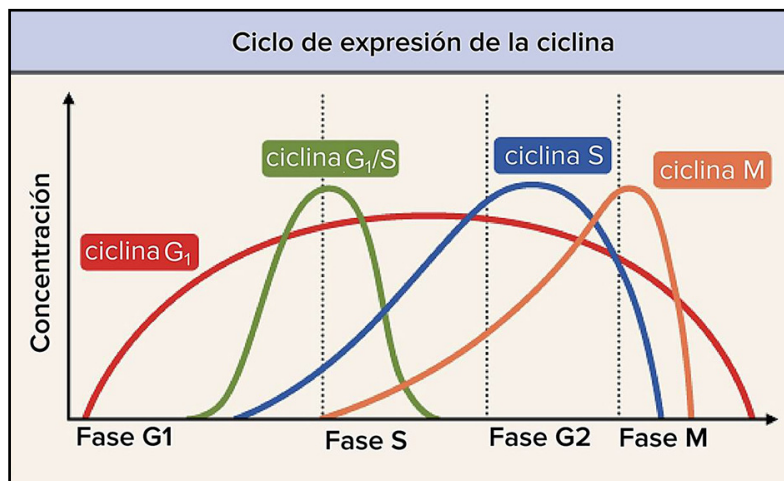


Fig. 5.4 Ciclinas en el ciclo celular (Khan Academy).

- **Regulación negativa del ciclo celular (fig. 5.5).**

La **ciclina D1** juega un papel importante en la regulación de la progresión celular a través de la fase **G1** del ciclo celular y se ha demostrado que tiene propiedades oncogénicas. Se demostró que en un 25% de tumores pituitarios, había evidencia de un frecuente desequilibrio alélico del gen **CCND1** en los tumores invasivos. Se observó expresión de **ciclina D1** en tumores no funcionantes (67%), con ausencia de un desequilibrio alélico de **CCND1** y esto sugiere la existencia de mecanismos adicionales implicados en la tumorigénesis pituitaria humana (Hibberts y col., 1999).

Los componentes de la vía **pRb/p16/ciclina D1/CDK4** son objetivos frecuentes en los tumores hipofisarios. Se comunicó sobreexpresión de ciclina **D1** en el 49% de los tumores hipofisarios, pero no hubo asociación significativa entre la sobreexpresión de ciclina **D1** y el estado de expresión de **pRb** o **p16**. Además, no se detectaron mutaciones activadoras en el codón 24 del gen **CDK4** (Simpson y col., 2001). Se ha documentado la sobreexpresión de la **ciclina D3** en el 68% de los adenomas hipofisarios (Saeger y col., 2001).

Se investigó la expresión de **ciclina D1** y **ciclina E** en una variedad de tumores hipofisarios benignos y metastásicos. Se halló sobreexpresión de **ciclina D1** en tumores hipofisarios agresivos y no funcionantes,

mientras que la expresión de **ciclina E** se observó con mayor frecuencia en la enfermedad de Cushing que podría relacionarse con el bajo nivel de expresión de la proteína **p27** en corticotropinomas (Jordan y col., 2000).

Se ha documentado la sobreexpresión de la **ciclina D3** en el 68% de los adenomas hipofisarios (Saeger y col., 2001).

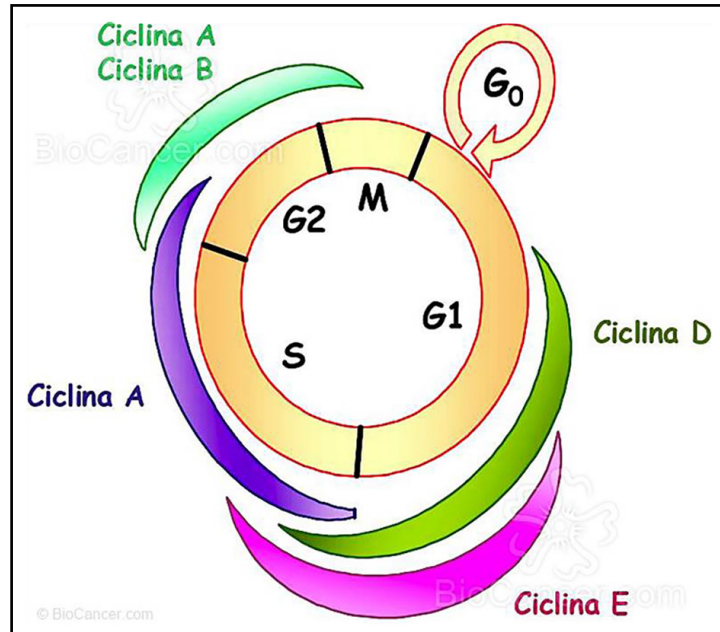


Fig. 5.5 Regulación negativa del ciclo celular (Bio Cancer).

5.3.2 Quinasas dependientes de ciclinas: CDKs (fig. 5.6)

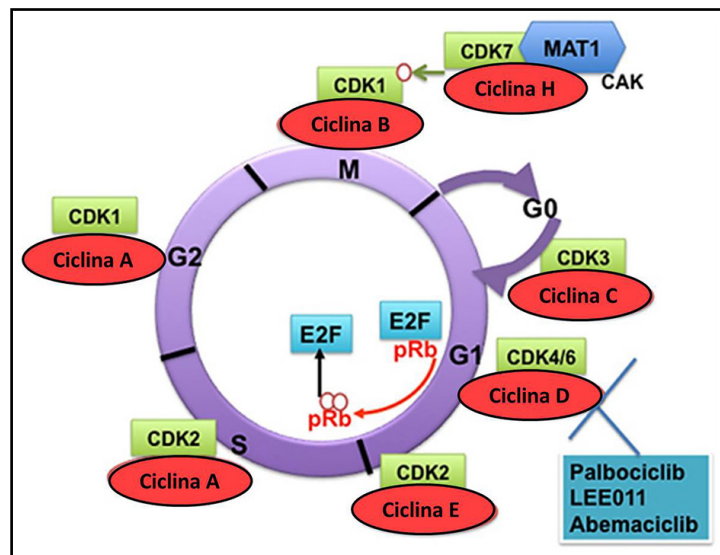


Fig. 5.6 Quinasas dependientes de ciclinas: CDKs. (Researchgate).

Los componentes de la vía **pRb/p16/ciclina D1/CDK4** son objetivos frecuentes en los tumores hipofisarios. Se comunicó sobreexpresión de ciclina **D1** en el 49% tumores hipofisarios, pero no hubo asociación significativa entre la sobreexpresión de **ciclina D1** y el estado de expresión de **pRb** o **p16**. Además, no se detectaron mutaciones activadoras en el codón 24 del gen **CDK4** (Simpson y col., 2001).

INK4 y **CIP/KIP** son dos familias de inhibidores de quinasa dependiente de ciclina (**CDK**) implicados en mediar una amplia gama de señales de control del crecimiento celular. La delección de **p18/INK4c** en ratones generó la hiperplasia de los lóbulos intermedio y anterior, adenomas en el lóbulo intermedio, gigantismo y organomegalia. Los ratones con doble delección de **p18/INK4cy p27/Kip1** mueren a los 3 meses con adenomas agresivos. Tanto **p18** como **p27** median dos vías separadas para suprimir de forma colaborativa la tumorigénesis pituitaria, controlando la función de **Rb** (Franklin y col., 1998).

La progresión del ciclo celular de la fase **G1** a la **S** depende de la fosforilación de **pRb** por complejos que contienen una **ciclina D** o **E** y una quinasa dependiente de ciclina (p. ej., **CDK2, CDK4, CDK6**). Las proteínas **INK4** funcionan para oponerse, inhibiendo **CDK4/6**. Los datos sugieren que **p16 (INK4a)** y **p18 (INK4c)** determinan una mayor proliferación en los islotes intermedios pituitarios y pancreáticos de ratones adultos. La supervivencia de ratones **p16 (Ink4a^{-/-}); p18 (Ink4c^{-/-})** estuvo significativamente reducida debido a tumores pituitarios agresivos (Ramsey y col., 2007).

Se documentó que la hipermetilación de la isla **CpG** dentro del exón 1, pero no el exón 2, del gen **CDKN2A** que se asocia con frecuencia con la pérdida de expresión de proteínas en los tumores pituitarios no funcionantes, pero no en los somatotropinomas (Simpson y col., 1999). Se halló que los macroadenomas no funcionantes han alterado la expresión de **p16 (INK4A)** en una proporción mayor que cualquier otro subtipo de tumor hipofisario. Dentro de los adenomas no funcionantes, el 63% eran de células nulas y el 37% eran positivos para alguna hormona, ambos subgrupos mostraron un porcentaje similar de casos con ausencia de ARNm de **p16 (INK4A)**. El 40% de los macroadenomas y el 25% de los microadenomas tenían ARNm de **p16 (INK4A)** negativo (Machiavelli y col., 2008).

Los modelos de roedores de tumorigénesis pituitaria han implicado a la vía del retinoblastoma (**Rb**) en el desarrollo de tumores hipofisarios. La isla **CpG5'** del gen **p16** está muy metilada. La alta frecuencia de metilación del gen **p16** en tumores pituitarios humanos sugiere que esta alteración es un evento necesario en la transformación de las células pituitarias. En los adenomas hipofisarios humanos, la expresión de **p16/INK4a** y **p15/INK4b** está a menudo silenciada. La alta frecuencia de metilación del gen **p16** en tumores pituitarios humanos sugiere que esta alteración es un evento necesario en la transformación de las células pituitarias (Woloschak y col., 1997).

La expresión de **p18/INK4c** se encontró reducida en los corticotropinomas y adenomas no funcionantes (Morris y col., 2005). La ausencia de proteína **CDKN2C** se correlacionó con la metilación de su promotor en el 39,5% de los adenomas. Se comunicó que el gen supresor de tumores **CDKN2C** suele ser el objetivo de las alteraciones genómicas en el adenoma hipofisario (Kirsch y col., 2009).

Una mutación de **CDK4 (R24C)** y su inhibidor de quinasa clave **p16 (INK4a)** se han implicado en la génesis y progresión del melanoma humano familiar. Se han desarrollado una amplia variedad de tumores en ratones portadores de la mutación **CDK4 (R24C)** que puede constituir un evento central en la génesis de muchos tipos de neoplasia endocrinas y mesenquimáticas, además del melanoma (Sotillo y col., 2001; Rane y col., 2002).

La desregulación del ciclo celular es una de las características definitorias del cáncer. La quinasa 4 dependiente de ciclina (**CDK4**), junto con su subunidad reguladora **ciclina D**, gobierna la progresión del ciclo celular a través de la fase **G1**. Los inhibidores de quinasas dependientes de ciclina, incluido **p16 (INK4A)** regulan **CDK4**. No se detectaron mutaciones activadoras del gen **CDK4**, un componente de la vía **ciclinaD1/CDK4/p16INK4a/pRb**. Las mutaciones somáticas del gen **RB1** o del gen **CDK4** no parecen desempeñar un papel importante en la tumorigénesis pituitaria. Esto respalda la presencia de genes supresores de tumores potenciales en **13q12.3-q13** a **13q31-32** al estudiar adenomas hipofisarios (Honda y col., 2003). Se observó que los ratones *knock-in* homocigotos para la mutación **CDK4 (R24C)** desarrollaron neoplasias múltiples, por lo general, tumores endocrinos: adenomas hipofisarios, insulino-mas y tumores testiculares de células de Leydig (Vax y col., 2003).

Cerovac y col. (2010) registraron un efecto aditivo del octreótido y la rapamicina, frenando la proliferación celular en adenomas no funcionantes mediados por la inducción de **p27/Kip1** y la inhibición del complejo ciclina **E-CDK2**. Estos hallazgos muestran que el tratamiento adyuvante con un análogo de la somatostatina puede sensibilizar a las células neoplásicas pituitarias a los efectos antiproliferativos

de la rapamicina. El conocimiento de los defectos del ciclo celular en los adenomas pituitarios tendría aplicaciones terapéuticas, ya que las **CDK** están muy activas en los mismos.

5.3.3 Proteína del retinoblastoma: pRB (fig. 5.7)

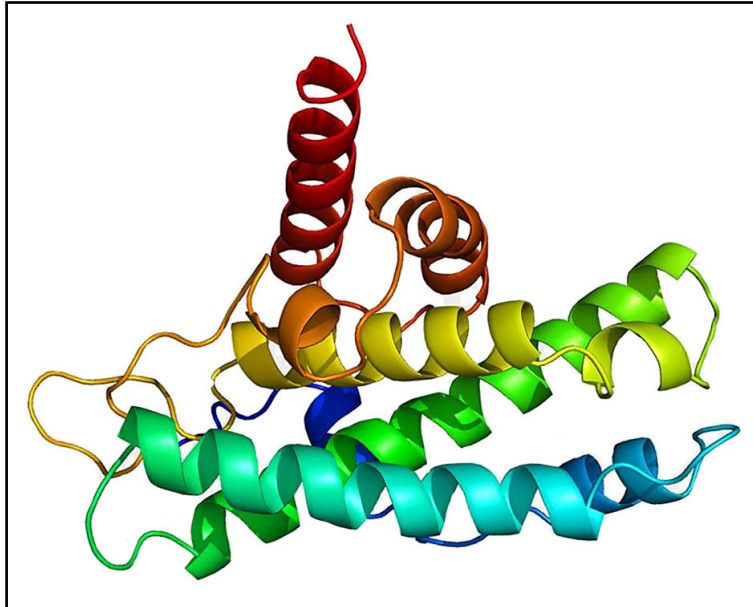


Fig. 5.7 Molécula de pRB (PNG).

El tejido hipofisario es diana preferente de la desregulación del ciclo celular. Los miembros de la familia **pRB** son los principales inhibidores de la progresión del ciclo celular entre **G1** y **S**. Los seres humanos con una mutación de la línea germinal del gen **RB** están predispuestos al *retinoblastoma* con una penetrancia del 90%. Se ha establecido una cepa de ratón que porta una mutación de la línea germinal del gen **Rb-1** que sufren tumores hipofisarios espontáneos en ratones heterocigotos **Rb-1**. Los análisis histológicos indican que estos tumores se originan en el lóbulo intermedio de la glándula pituitaria, que es una estructura vestigial en humanos adultos. Esta cepa de ratón con inactivación de **Rb** proporciona un modelo único para abordar la predisposición tumoral específica de tejido mediante la inactivación de un gen supresor tumoral (Jacks y col., 1992; Hu y col., 1994).

La hipermetilación aberrante de las islas **CpG** en la región promotora juega un papel causal en la inactivación de varios genes clave involucrados en la cascada reguladora del ciclo celular. La pérdida de la expresión de la proteína **pRB** se halló en un tercio de los tumores hipofisarios humanos y se asocia a la hipermetilación aberrante del promotor de **RB1**. Se sugiere que la inactivación de la vía **RB1** puede jugar un papel causal en la tumorigénesis pituitaria (Simpson y col., 2000; Ogino y col., 2005; Yoshino y col., 2007).

Los ratones portadores de mutaciones en la línea germinal del gen de susceptibilidad al retinoblastoma (**RB**) casi siempre desarrollan neoplasias hipofisarias. La inactivación funcional del gen supresor tumoral del **RB** es importante en la patogenia de muchos tumores humanos, pero la pérdida alélica de **RB1** en tumores hipofisarios humanos es muy poco frecuente y ocurriría solo en tumores muy invasores (Cryns y col., 1993; Zhu y col., 1994; Pei y col., 1995).

5.3.4 Gen transformador del tumor hipofisario: PTTG (*securina*) (fig. 5.8)

El *gen transformador de tumores hipofisarios 1* (**PTTG1**) se sobreexpresa en una variedad de tumores relacionados con el sistema endocrino, especialmente en los tumores pituitarios, tiroideos, mamarios, ováricos y uterinos, así como en cánceres no endocrinos que afectan al SNC, pulmonar y gastrointestinal. Los niveles altos de **PTTG1** se correlacionan con la invasividad se lo identificó

como un gen asociado con la metástasis tumoral. Cada vez hay más pruebas que respaldan un rol multifuncional de **PTTG1** en la tumorigénesis que implican transformación celular y aneuploidía, apoptosis y retroalimentación del microambiente tumorigénico (Vlotides y col., 2007).

El **PTTG1 (securina)**, es un socio inactivador de la **separina (separasa)**, el principal efector de la separación cromosómica durante la mitosis. En la transición de metafase a anafase, la **securina** se dirige a la destrucción proteasomal por el complejo promotor de anafase o **ciclosoma**, lo que permite la activación de la **separina**. Se observó una fuerte correlación entre la acumulación de **securina** y la inactivación de la glucógeno sintetasa quinasa-3 β (**GSK3 β**) en tejidos de cáncer de mama, por lo que su inactivación puede explicar la acumulación de **securina** en las neoplasias de mama (Mora-Santos y col., 2011). Una simple mutación de la **securina** induce inestabilidad cromosómica y estimula la invasión celular. Una sola mutación en **PTTG1** es suficiente para activar las propiedades oncogénicas de la **securina**. En los adenomas hipofisarios con baja tasa de proliferación no se explica el exceso de **PTTG1** y es probable que se agreguen defectos de la maquinaria de degradación o de las quinasas/fosfatasa reguladoras que ocasionan su acumulación (Mora-Santos y col., 2013).

La separación de las cromátidas hermanas se desencadena en la transición de metafase a anafase mediante la activación de la proteasa **separina**, regulada por **securina**. Fuera de la mitosis, la estabilidad de **PTTG1** depende de su estado de fosforilación, pues las formas hiperfosforiladas son degradadas por el proteasoma. La mala regulación de este proceso puede conducir a la formación de tumores, en los que a menudo se observa una sobreproducción de **PTTG (securina)** (Gil-Bernabé y col., 2006). El **PTTG1** está implicado en la respuesta de la célula a los daños en el ADN por radiación. Los complejos **PTTG1-separasa** no cambian, asegurando que no se produzca una separación prematura de las cromátidas hermanas. El **PTTG1** es necesario para mantener la detención del ciclo tras radiación UV, ya que las células **PTTG1 (-/-)** siguen proliferando tras la radiación, provocando un aumento en el nivel de apoptosis (Romero y col., 2004). La degradación de **PTTG1 (securina)** ante la radiación UV se produce mediante **E3 ubiquitina ligasa SCF** y es responsable de la degradación de la **securina** (Limón-Mortés y col., 2008).

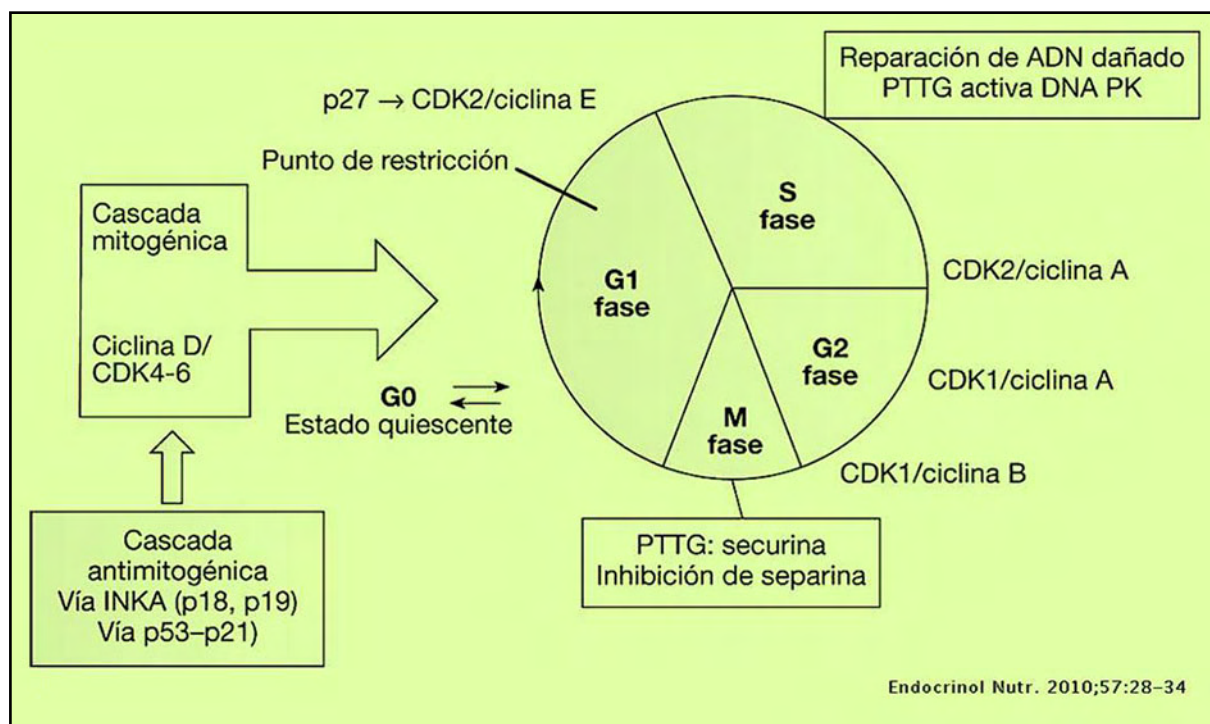


Fig. 5.8 PTTG (Endocrinol Nutr, 2010).

El **PTTG** juega un papel central en la tumorigénesis hipofisaria. No se detectó expresión de **PTTG** o **Ki-67** en tejido pituitario normal. El **PTTG** se expresa en el 90% de los tumores pituitarios de diferentes

histotipos, en paralelo con el marcador de proliferación **Ki-67**. Ambos biomarcadores están correlacionados con un comportamiento más agresivo (Filippella y col., 2006).

El **PTTG1** se aisló a partir de células hipofisarias GH4 de rata. Es capaz de inducir su transformación *in vitro* y formar tumores en ratones atímicos (Pei y Melmed, 1997). Está sobreexpresado en adenomas pituitarios, pero apenas se expresa en la hipófisis normal (Sáez y col., 1999). **PTTG1** ha sido identificado como **securina**. El aumento de expresión de securina puede resultar en ganancia o pérdida de cromosomas, por lo que actuaría como reguladora en la separación de las cromátidas. Se asocia a proliferación celular y durante el ciclo celular su nivel de expresión es máxima en **G2/M**, momento en el que **PTTG1** se fosforila por acción de **CDK1** (Zou y col., 1999).

El nivel de los homólogos **PTTG2** y **PTTG3** humanos aumentan en el momento de mayor proliferación celular y alcanzan su pico en la mitosis (Ramos-Morales y col., 2000). Sin embargo, para Pflghaar y col. (2005) no parece que la securina sea requerida para mantener la estabilidad cromosómica en células humanas.

El **PTTG** de tumores pituitarios humanos inhibe la separación de las cromátidas y se sobreexpresa en muchos tipos de tumores humanos. Los ratones que carecen de **PTTG** (**PTTG -/-**) son, sorprendentemente, viables, fértiles y no desarrollan tumores (Wang y col., 2001). Además, dichos ratones exhiben una alteración en la proliferación de las células β y sufren diabetes mellitus (Wang y col., 2003) y sus hipófisis son hipoplásicas. En los ratones heterocigotos (cruce de **pRB (+/-)** y **PTTG1 (-/-)**) disminuye la incidencia de tumores hipofisarios (Chesnokova y col., 2005). En los ratones **PTTG1 (-/-)** se identificó senescencia hipofisaria, que incluyen el aumento de los niveles de **p21/Cip1**, asociados a la supresión de la actividad de **CDK2**, a la fosforilación de **pRB** y a la expresión de **ciclina A** que permiten la progresión del ciclo celular. La delección o la sobreexpresión de **PTTG** inducen aneuploidía de las células pituitarias y la senescencia dependiente de **p53/p21**, especialmente en las células somatotropas. La **p21** de células aneuploides de la hipófisis puede limitar el crecimiento del tumor hipofisario, lo que explica la muy baja incidencia de carcinomas hipofisarios (Chesnokova y col., 2007, 2008).

El **PTTG1** se expresa en diferentes tipos de cáncer y ha sido propuesto como marcador pronóstico en el cáncer de mama, colon y tiroides (Solbach y col., 2004; Sáez y col., 2006). La sobreexpresión de **PTTG1** determina inestabilidad cromosómica y aneuploidía, mecanismos que han sido sugeridos como los responsables de su capacidad tumorigénica. La acumulación de **PTTG** por sobreexpresión, inhibe la progresión de la mitosis y la separación cromosómica, pero no afecta la citocinesis (Yu y col., 2003).

El gen **PTTG1** cuando se sobreexpresa es oncogénico y muestra actividad transcripcional. Se propone que la mayor expresión de **securina** puede resultar de la modulación de las funciones de **p53** que actúa como mediador de la actividad transcripcional y de la apoptosis (Bernal y col., 2002). El **PTTG** podría conectar las vías de respuesta al daño del ADN con la separación de las cromátidas hermanas, retrasando la aparición de la mitosis, mientras se produce la reparación del ADN (Romero y col., 2001).

El **PTTG** activa la transcripción de **c-myc** en células transfectadas y se une al promotor **c-myc** cerca del sitio de inicio de la transcripción en un complejo de proteínas que contiene el factor estimulante (**USF1**). Estos resultados establecieron el papel de **PTTG** como activador de la transcripción e indican que está involucrado en la transformación celular y la tumorigénesis a través de la activación del oncogen **c-myc** (Pei, 2001). También activa el factor de transcripción **Sp1**. Los resultados muestran que **PTTG1** exhibe propiedades de un factor de transcripción global y modula la transición de fase **G1/S** al interactuar con **Sp1** (Tong y col., 2007).

El **PTTG** codifica una proteína multifuncional que está implicada en iniciar y perpetuar el crecimiento del adenoma hipofisario. Estos eventos están mediados por interacciones con el *factor de unión de PTTG* (**PBF**) y el factor de crecimiento fibroblástico 2 (**FGF-2**). La regulación positiva de la señalización de **FGF-2** en la tumorigénesis es mediada por **PTTG** (McCabe y col., 2003). Además, **PTTG** induce *angiogénesis* y el **VEGF** podría estar mediando la progresión del tumor hipofisario (Hunter y col., 2003).

La sobreexpresión de **PTTG** en hipófisis de ratón inducida por la *subunidad α de la hormona glucoproteica* (**α GSU**) da como resultado un cambio de fenotipo en las células madre hipofisarias tempranas y

promueve la expansión de las células polihormonales diferenciadas (LH, TSH, GH) (Abbud y col., 2005). Los ratones con inactivación de **PTTG** presentan *hipoplasia hipofisaria*, mientras que la sobreexpresión de **PTTG** hipofisaria impulsada por α GSU da como resultado una *hiperplasia hipofisaria*. Este transgen en ratones heterocigotos para **RB1** aumentó 3.5 veces la frecuencia de los tumores del lóbulo intermedio (Donangelo y col., 2006).

La abundancia de **PTTG** es un marcador molecular de invasividad en tumores hipofisarios endocrinos. Esto sugiere que el **PTTG** desempeña un papel en la tumorigénesis y la invasividad hipofisarias (Zhang y col., 1999). La expresión de **PTTG** se correlaciona con la actividad proliferativa (**Ki67**) y la recurrencia de adenomas pituitarios. Sin embargo, el **Ki-67** resultó ser el marcador biológico más fiable para predecir el potencial de recidiva de estos tumores (Filippella y col., 2006). En un estudio de invasión y agresividad en prolactinomas (*invasivos, no-invasivos, agresivos-no-invasivos*), el **PTTG1** estuvo sobreexpresado en los prolactinomas agresivos-invasivos (Wierinckx y col., 2007). Los marcadores moleculares brindan información en el pronóstico de prolactinomas agresivos, brindando resultados que pueden influir en el manejo de pacientes (Raverot y col., 2010). La expresión de **PTTG** fue clave en adenomas hipofisarios no funcionantes (Noh y col., 2009) (fig. 5.9).

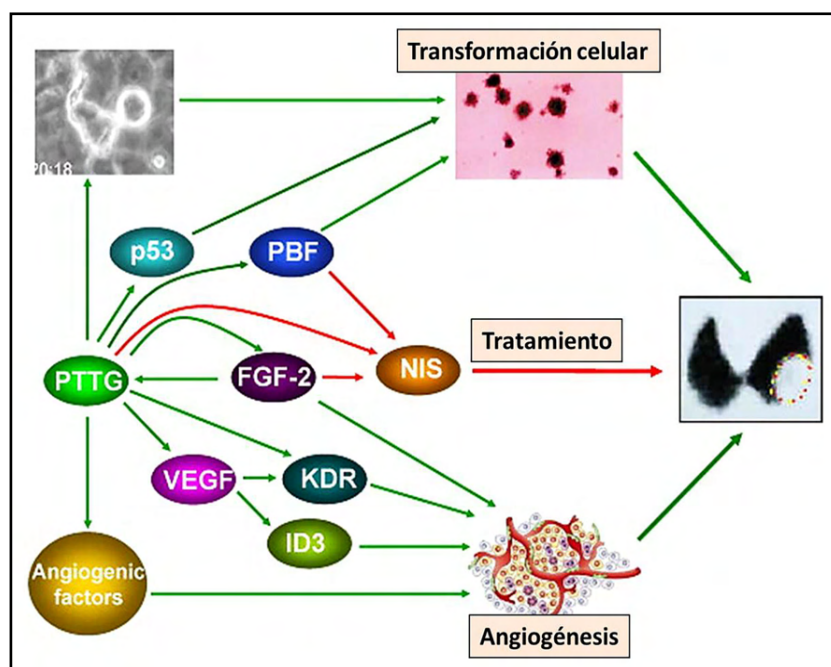


Fig. 5.9 PTTG (Science Direct).

Las mutaciones no juegan un papel importante en la transcripción de **PTTG** en los adenomas hipofisarios. Por lo tanto, las proteínas de unión al ADN, la hipometilación u otros factores epigenéticos pueden ser responsables de la sobreexpresión de **PTTG** (Kanakakis y col., 2003).

5.3.5 Wnt- β catenina

Los ligandos y las vías de señalización de **Wnt** son fundamentales para la regulación de la formación de la hipófisis. En la pituitaria madura, las vías de señalización de **Wnt** controlan la actividad celular y pueden estimular la proliferación celular, tanto en procesos fisiológicos como patológicos (Chambers y col., 2013). Las vías **Wnt** están implicadas en la patogenia de una variedad de tumores humanos. No se observó acumulación nuclear de β -**catenina** en ningún tumor pituitario.

La β -catenina actúa como factor de transcripción sobre la **ciclina D1**. Sin embargo, la pérdida del inhibidor de la vía **Wnt-WIF1** en muchos adenomas y la disminución de la proliferación de las células

GH3 transfectadas con **WIF1**, sugieren que la vía **Wnt1** es importante en la tumorigénesis hipofisaria, específicamente en tumores hipofisarios no funcionantes (Elston y col., 2008) (**fig. 5.10**).

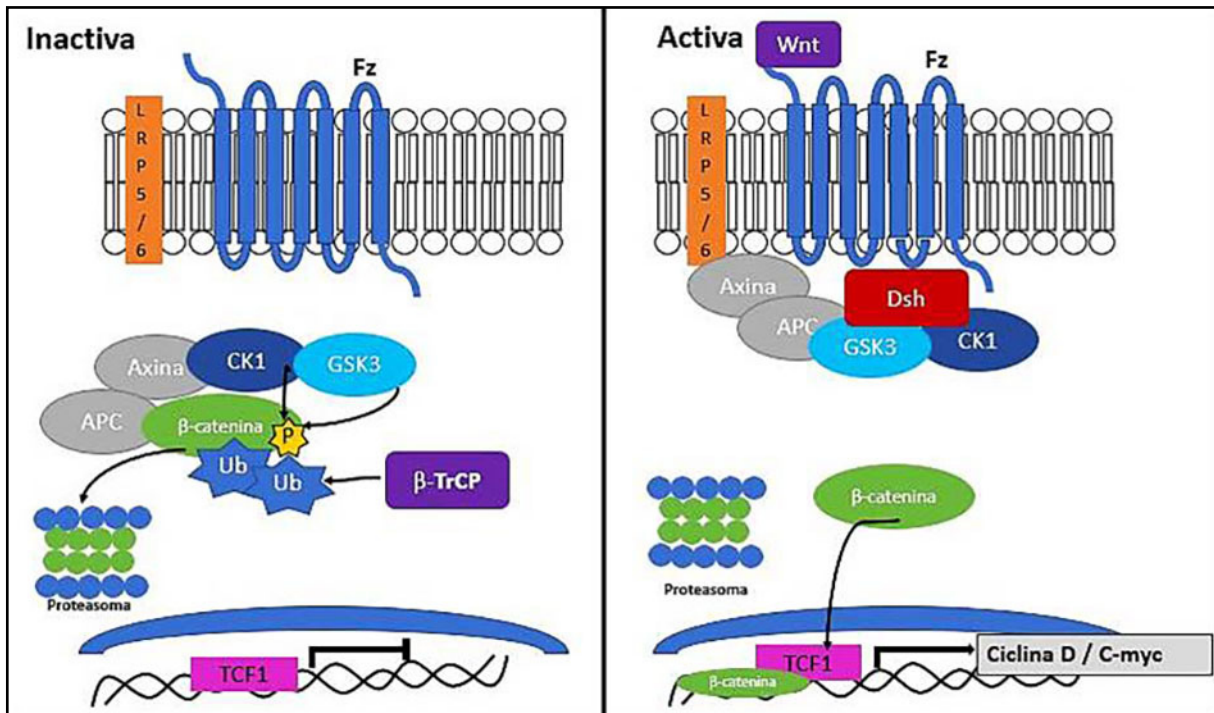


Fig. 5.10 Vía Wnt (activa) (wikipedia).

Se demostró que la expresión génica de una forma mutante resistente a la degradación de la β-catenina en los progenitores tempranos de la bolsa de Rathke, conduce a una *hiperplasia hipofisaria* y a una interrupción severa de la diferenciación del linaje del factor de transcripción 1 específico de la pituitaria, lo que resulta en un *retraso del crecimiento e hipopituitarismo*. El efecto tumorigénico de la β-catenina mutante se observa sólo cuando se expresa en progenitores indiferenciados de la bolsa de Rathke. El análisis de las pituitarias afectadas conduce a un aumento significativo en el número total de células madre/progenitoras hipofisarias, así como en su potencial de proliferación generando craneofaringioma murino y humano (Gaston-Massuet y col., 2011) (**Molécula: fig. 5.11**).

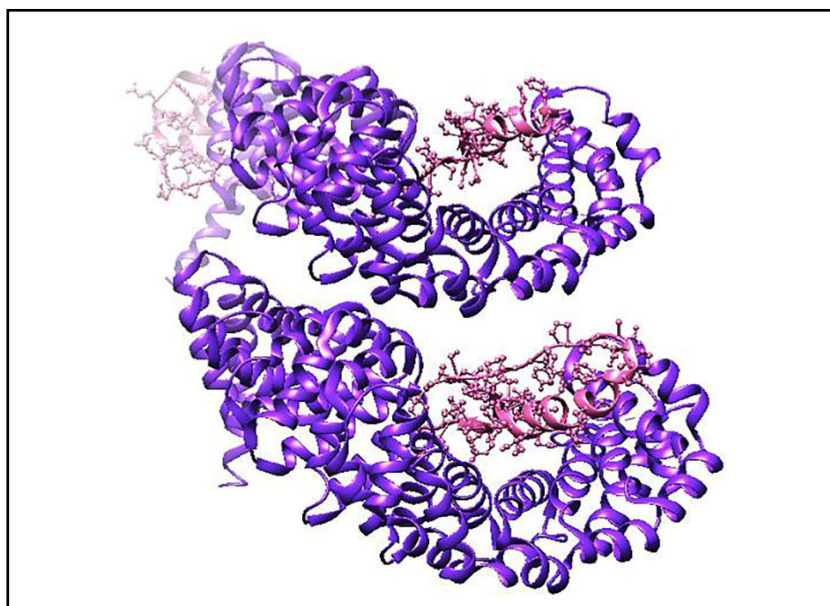


Fig. 5.11 Molécula de β-catenina (web).

5.3.6 p27/Kip1

La deficiencia de **p27/Kip1** puede causar un defecto. La delección de **p27** provocó el crecimiento neoplásico de la pars intermedia pituitaria, lo que sugiere que **p27** y **Rb** funcionan en la misma vía reguladora (Fero y col., 1996; Kiyokawa y col., 1996; Nakayama y col., 1996). El compromiso de las células para dividirse se correlaciona con la activación de quinasas dependientes de ciclina y la inactivación de **Rb**, el producto del gen supresor de tumores del retinoblastoma. **Rb** es un objetivo de las quinasas dependientes de ciclina y, cuando se fosforila, se inactiva. Se detectaron tumores agresivos tanto de hipófisis como de tiroides en los ratones **Rb** (+/-), **p27** (-/-) (Park y col., 1999). Sin embargo, las mutaciones **p27/KIP1** no se hallaron en adenomas hipofisarios humanos (Tanaka y col., 1997; Dahia y col., 1998).

Otros autores comunicaron una expresión reducida de **p27/Kip1** en adenomas pituitarios y, en especial, en corticotropinomas y carcinomas hipofisarios (Bamberger y col., 1999; Lidhar y col., 1999).

El inhibidor del ciclo celular **p27/Kip1** también tiene funciones independientes de la quinasa dependiente de ciclina (**CDK**). Se generó un ratón *knock-in* con 4 sustituciones de aminoácidos en el producto del gen **CDKn1b** que impiden su interacción con ciclinas y **CDK** (**p27CK-**). En notable contraste con la delección completa del gen **CDKn1b**, que causa tumorogénesis espontánea solo en la hipófisis, la proteína **p27CK-** causó lesiones hiperplásicas y tumores en múltiples órganos. Por lo tanto, el ratón **p27CK** revela un papel dual para **p27** durante la tumorogénesis: es un supresor de tumores en virtud de su función reguladora de **ciclina-CDK** y también un *oncogén* a través de una función independiente de **ciclina-CDK** (Besson y col., 2007).

Los inhibidores de **CDK** previenen la proliferación celular regulando negativamente los complejos **ciclina-CDK**. Se propuso que dichos complejos pueden promover la progresión del ciclo celular regulando a la baja los inhibidores de **CDK**. Se demostró que la fosforilación de **p27** dependiente de **ciclina E-CDK2** da como resultado la eliminación de **p27** de la célula, lo que permite que las células pasen de la fase G1 a la S. Con **ATP** bajo (<50 microM), **p27** es un inhibidor de **CDK**, pero a concentraciones de **ATP** que se acercan a niveles fisiológicos (>1 mM), es más probable que **p27** sea sustrato (Sheaff y col., 1997).

Se demostró que la *senescencia celular* tiene un papel importante en el inicio y la promoción de tumores. Se cree que la senescencia inducida por *oncogenes* o por la *pérdida de genes supresores tumorales* depende críticamente de la inducción de la vía **p19 (Arf)-p53**. La ligasa **Skp2 E3-ubiquitina** puede actuar como un protooncogén y su sobreexpresión aberrante se observa con frecuencia en cánceres humanos. Se demostró que aunque la inactivación de **Skp2** por sí sola no induce la senescencia celular mientras que las señales protooncogénicas aberrantes, así como la inactivación de los genes supresores tumorales desencadenan una potente respuesta de *senescencia supresora de tumores* en ratones y células desprovistas de **Skp2**. En particular, la inactivación de **Skp2** y la senescencia impulsada por estrés oncogénico no provocan la activación de la vía **p19 (Arf)-p53** ni el daño del ADN, sino que dependen de **Atf4**, **p27** y **p21**. Además, se demostró que la inactivación genética de **Skp2** evoca senescencia celular incluso en condiciones oncogénicas en las que la respuesta **p19 (Arf)-p53** está alterada, mientras que un inhibidor del complejo **Skp2-SCF** puede desencadenar la senescencia celular en células deficientes en **p53/Pten** y la regresión tumoral. Los hallazgos proporcionan evidencia de la inhibición farmacológica de **Skp2** que podría representar un enfoque general para la prevención y la terapia del cáncer (Lin y col., 2010).

Las mutaciones en el gen **MEN1** están asociadas con el síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1), que se caracteriza por hiperplasia paratiroidea y tumores de los islotes pituitarios y pancreáticos. En modelos de ratones dobles mutantes para **p18/INK4c (-/-)** y **MEN1 (+/-)** se incrementa la fosforilación de **pRB**, la proliferación celular y el crecimiento de los tumores

endocrinos, incluidos los hipofisarios. La pérdida de la función de **menina** tiene como resultado la reducción de la expresión de estos dos inhibidores del ciclo celular: **p27/Kip1** y **p18/INK4c** con desregulación de la proliferación celular. La proteína **menina**, producto del gen **MEN1**, es un regulador directo de la activación transcripcional de **p27/Kip1** y **p18/INK4c** (Karnik y col., 2005; Milne y col., 2005; Bai y col., 2007).

E2F1 induce la expresión del *gen transformador de tumores pituitarios (PTTG1)* en tumores pituitarios humanos. El **PTTG1**, una proteína de securina, es necesario para la tumorigénesis hipofisaria. La vía **Rb/E2F1** activada de forma aberrante induce una expresión abundante de **PTTG1** en el tumor. La vía **Rb** tumoral activada de forma aberrante libera **E2F1** para inducir una expresión de **hPTTG1**. La sobreexpresión de **hPTTG1** puede resultar en inestabilidad y proliferación cromosómicas que facilita la tumorigénesis (Zhou y col., 2009) (fig. 5.12).

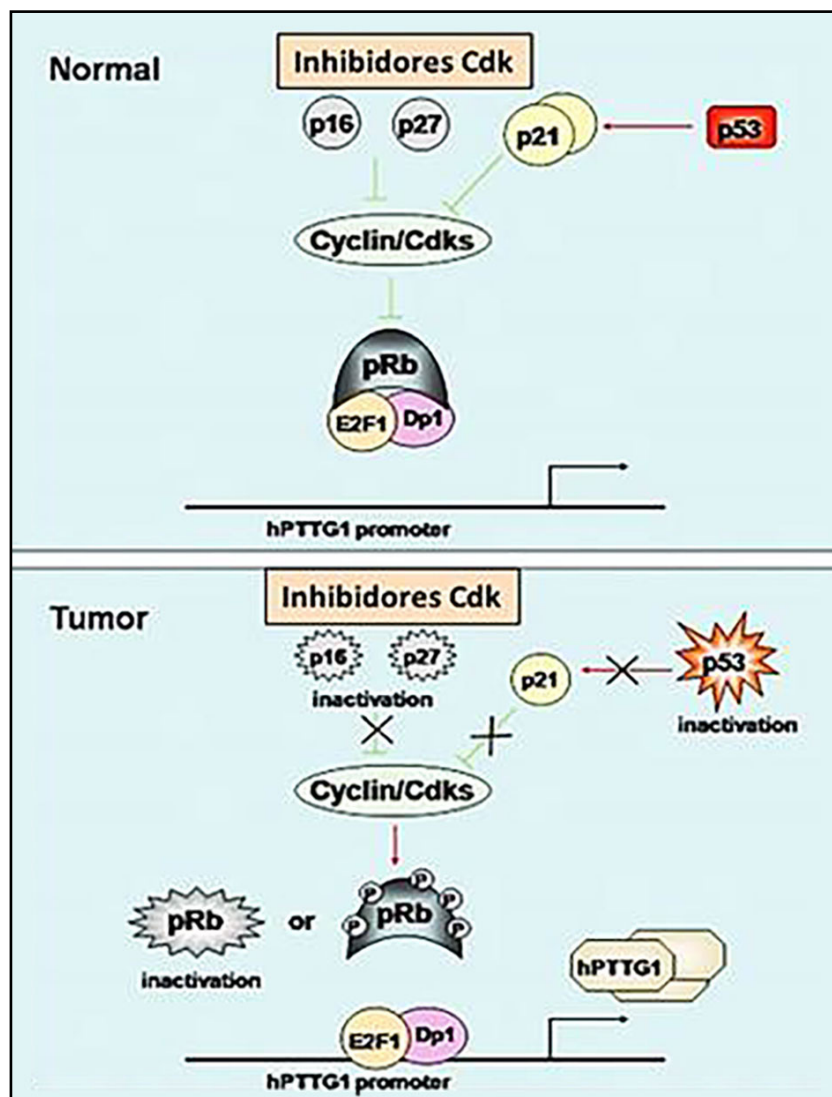


Fig. 5.12 Vía Rb/E2F1 activada de forma aberrante induce expresión de PTTG1. (Zhou, 2009).

Las mutaciones de **CDK-NB1**, el gen que codifica la proteína **p27/KIP1**, se asociaron a síndrome NEM-like o NEM4. Los hallazgos demuestran que las mutaciones de la línea germinal en **p27 (Kip1)** pueden predisponer al desarrollo de múltiples tumores endocrinos tanto en ratas como en humanos (Pellegata y col. 2006). **Se registraron** mutaciones de la línea germinal **CDK-N1B/p27 (Kip1)** que predisponen a una afección similar a la MEN1 humana. Sin embargo, tales mutaciones parecen poco frecuentes en casos sospechosos de MEN1 y raras o inexistentes en pacientes con acromegalia/adenoma hipofisario familiar o esporádico (Georgitsi y col, 2007; Agarwal y col., 2009).

En **NEM4**, las mutaciones de **CDK-NB1** pueden disminuir la estabilidad de la proteína **p27/Kip1**, prevenir su translocación nuclear o la interacción con **CDK2** (Molatore y col., 2010) (fig. 5.13).

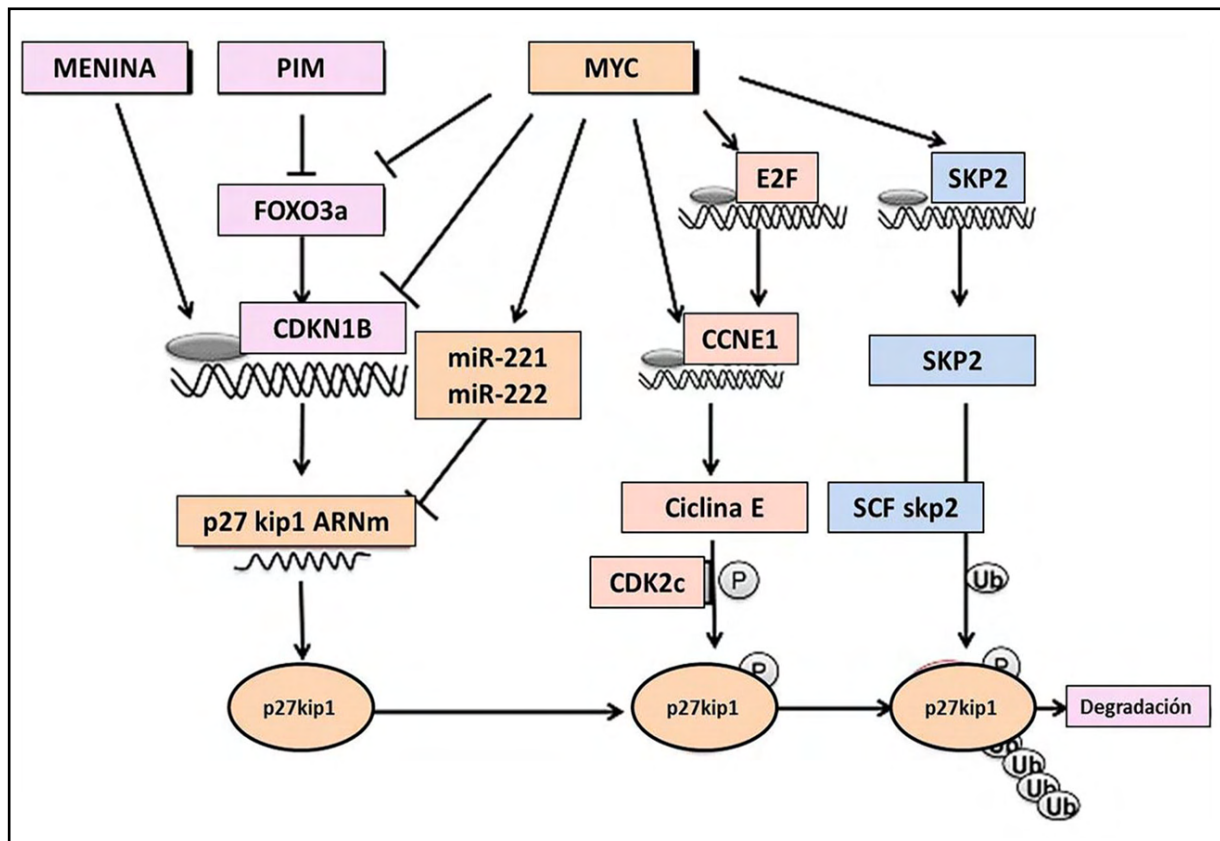


Fig. 5.13 P27kip1 (ScienceDirect).

El inhibidor de **CDK-p27** juega un papel fundamental en el control de la proliferación celular durante el desarrollo y está implicado en la tumorigénesis. Estudios previos demostraron cambios en la expresión de la proteína **p27**, pero no en los niveles de ARNm, en tumores pituitarios humanos. Es probable que la caída de **p27** se deba a una mayor degradación a través de la **vía ubiquitina-proteasoma**. **Skp2** es una proteína de caja F específica que permite el reconocimiento y la unión de **p27** fosforilada al **complejo de ubiquitina**. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tumores pituitarios y el tejido pituitario normal en el ARNm de **Skp2** o la expresión de la proteína nuclear. Se sugiere que el aumento de la degradación de **p27** a través de la vía ubiquitina-proteasoma podría regularse en tumores pituitarios por cambios en la expresión de **Skp2**, aunque otros factores también participan (Musat y col., 2002).

Korbonits y col. (2002) estudiaron la proteína de unión al dominio de activación de Jun 1 (**Jab1**) en tejido hipofisario normal, adenomas hipofisarios y carcinomas hipofisarios, que facilita la fosforilación y degradación de **p27**, pero no hallaron cambios marcados en los adenomas hipofisarios. La entrada en fase **S** produce un incremento de la actividad de ciclina **E-CDK2** que es la responsable de la fosforilación y degradación de **p27/Kip1** que conduce a su degradación (Nguyen y col. 1999).

El análisis molecular de los tumores hipofisarios humanos ha registrado alteraciones en la expresión de reguladores del ciclo celular: *ciclinas, quinasas dependientes de ciclina y sus inhibidores*. La **ciclina E** y **p27/Kip1** mantienen una interrelación, de manera que la sobreexpresión de una conlleva a la degradación de la otra. La **ciclina E** es degradada por el proteasoma. En los corticotropinomas se observó sobreexpresión de la **ciclina E** y podría sugerir una menor degradación por el sistema ubiquitina proteasoma. Los inhibidores de **CDK** moleculares podrían desempeñar un papel en el tratamiento de tumores hipofisarios en el futuro (Musat y col. 2010).

La sobreexpresión de **ciclina E** en células corticotropas conduce a una reentrada anormal en el ciclo celular con inestabilidad centrosomal. Cuando se combinó con el *knockout* de **p27/Kip1**, la sobreexpresión de **ciclina E** aumentó la incidencia de tumores hipofisarios, su tamaño y su índice proliferativo. Estos resultados sugieren que la regulación positiva de la **ciclina E** y la pérdida de función de **p27/Kip1** actúan de manera cooperativa sobre el desarrollo de adenomas hipofisarios (Roussel-Gervais y col., 2010).

Brugarolas y col. (1998) generaron mutaciones específicas de pérdida de función en dos reguladores negativos de la progresión de **G1: p21 y pRB**. Los ratones carentes de **p21/Cip1** no desarrollan, por lo general, tumores hipofisarios, pero la delección de **p21/Cip1** en ratones **RB1 (+/-)** acelera la tumorigénesis hipofisaria. Hay sinergismo cuando la delección **p21/Cip1** se hace en ratones **p18/INK4c (-/-)** en los que se desarrollan tumores hipofisarios (Franklin y col., 2000).

La pérdida combinada de **p21 (waf1/cip1)** y **p27/Kip1** estimula la tumorigénesis hipofisaria en ratones (García-Fernández y col., 2011). La sobreexpresión de **p21 (waf1/Cip1)** es particularmente sorprendente para los somatotropinomas, de los cuales el 92% mostraron expresión en más del 75% de las células (Neto y col., 2005).

Existe subexpresión de **p27** en los adenomas hipofisarios y proporcionan evidencia de la participación de la maquinaria postraduccional, aunque este fenómeno no puede explicarse tampoco por la mala expresión de los reguladores traslacionales **p27/CDKN1B: DKC1, RPS13, miR221, miR222** o **mutaciones en DKC1** (Martins y col., 2016).

Se registró mayor susceptibilidad al cáncer en la *disqueratosis congénita* ligada al cromosoma X (X-DC). Las mutaciones en **DKC1** que codifican *disquerina* están asociadas a una disfunción ribosómica y el supresor tumoral **p27**. La disminución de los niveles de actividad **DKC1** aumenta la tumorigénesis pituitaria espontánea en ratones heterocigotos **p27**. Estos hallazgos mostraron que las alteraciones genéticas en **DKC1** podrían contribuir a la tumorigénesis asociada con cáncer y a establecer un papel crítico para **DKC1** en la supresión tumoral (Bellodi y col., 2010).

Los **pRb** y **p53** son dos supresores de tumores importantes. El **p53** activa la expresión de **Pirh2** y **KPC1**, dos de las tres ligasas de ubiquitina para **p27**. La pérdida de **p53** en ausencia de **Skp2** reduce el conjunto de ubiquitina ligasas de **p27** para acumular la proteína **p27**. En ausencia de **pRb** y **p53**, el **p27** fue incapaz de inhibir la síntesis de ADN, pero podría inhibir la división de células que mantienen la replicación del ADN. Este mecanismo bloqueó la tumorigénesis deficiente de **pRb/p53** que coexistía

con lesiones neoplásicas marcadas con BrU, lo que revela una vulnerabilidad de células cancerosas no convencional cuando **pRb** y **p53** se inactivan (Zhao y col., 2013) (**Fig. 5.14**).

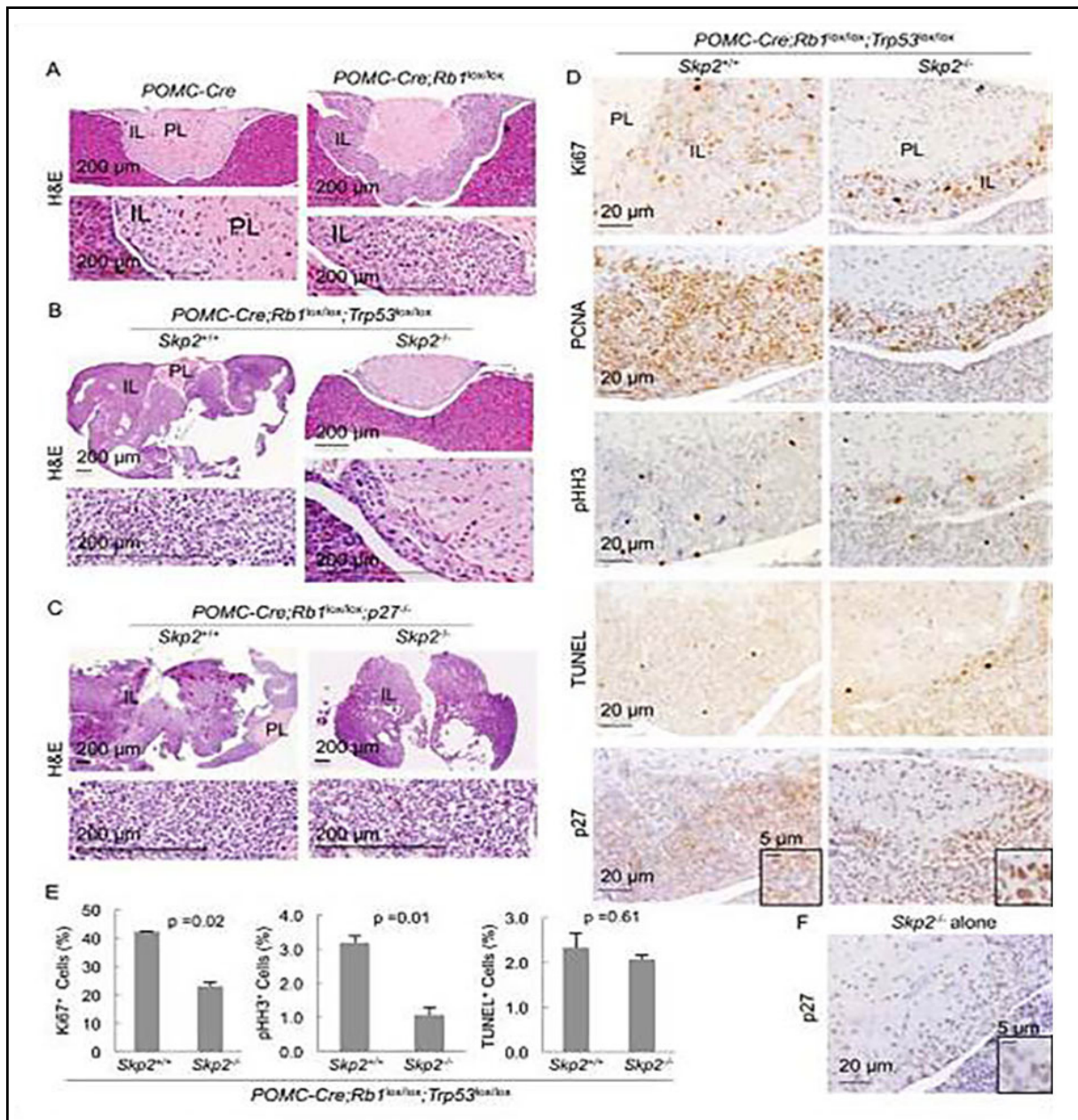


Fig. 5.14 Bloqueo de pRb y p53 pero no de pRb y p27 (Zhao y col., 2013). (A-C) Secciones H-E de muestras de hipófisis a las 7 semanas de edad. (D) Cuantificación de células positivas para tinción **Ki67**, **pHH3** o **TUNEL**. (E) Genotipo **Skp2+/+**; **POMC-Cre; Rb1lox/lox; Trp53lox/lox**, en pituitarias que no mostraban tumores macroscópicos. (F) Imagen representativa de las pituitarias **Skp2-/-** teñidas con **p27**.

5.3.7 Vías de señalización de Notch y Hedgehog

Las vías de señalización **Notch** y **Hedgehog** son principalmente activas en la fase temprana de la organogénesis hipofisaria y han sido implicadas en la patogenia de los adenomas hipofisarios (Yavropoulou y col., 2015).

Notch, proteína transmembrana, sirve como receptor de señales extracelulares. Esta proteína es un hetero-oligómero compuesto por dos porciones extracelulares, una larga y una corta que están asociadas por una interacción no covalente dependiente de calcio y una porción intracelular corta. Los mamíferos cuentan con cuatro receptores Notch. La ruta de señalización Notch participa en procesos proliferativos en la neurogénesis y mantenimiento de nichos de célula madre.

Notch se sintetiza como precursor y su procesamiento en el complejo de Golgi se hace mediante hidrólisis generada por la enzima convertasa. Se forman subunidades: IC, TM y EC que se reensamblan en la membrana plasmática como un complejo heterodimérico.

La unión de Notch y su ligando induce el procesamiento de Notch por la proteína presenilina, liberando la subunidad IC. La traslocación de ICN al núcleo induce la expresión de genes específicos: factores de transcripción Hes, NFkB y otros (fig. 5.15).

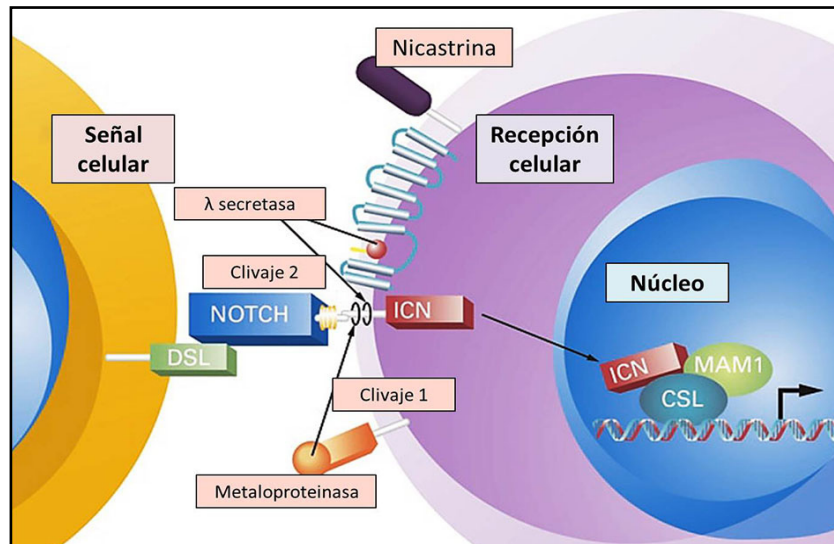


Fig. 5.15 Vía Notch (Researchgate).

Sonic hedgehog es una proteína codificada por el gen **Shh**. Esta molécula de señalización es clave en la regulación de la morfogénesis embrionaria. **Shh** es un morfógeno que modela el embrión en desarrollo y juega un rol en la diferenciación, proliferación y mantenimiento de los tejidos adultos (fig. 5.16).



Fig. 5.16 Molécula de Shh (Wikipedia).

El morfógeno del desarrollo Sonic Hedgehog (**Shh**) actúa a través de **Bmi1** para controlar el destino de las células madre. **Shh** a través de sus receptores, Patched (**Ptch**), Smoothened (**Smo**), señales a facto-

res de transcripción descendentes y **GLI**, para controlar el nivel de proteína de **Bmi1**. Se requiere **Bmi1** para modular **p16 ink4a** y **p19 Arf** (5.17).

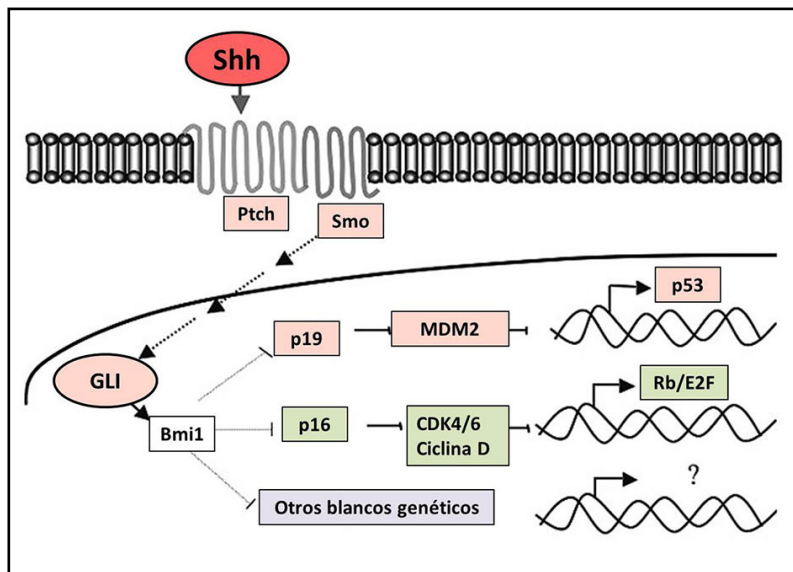


Fig. 5.17 Vía de señalización Shh (Researchgate).

5.3.8 Proteínas HMGA (*high mobility group A*) 1 y 2.

El **HMGA** pertenece a una familia de proteínas nucleares no histonas que orquestan el ensamblaje de complejos de nucleoproteínas. Esta familia de proteínas está involucrada, a través de diferentes mecanismos, en neoplasias tanto benignas como malignas. La sobreexpresión del gen **HMGA2** es una característica común de las células neoplásicas en modelos experimentales y humanos. Su sobreexpresión conduce a la aparición de adenomas hipofisarios mixtos con GH y PRL (Fedele y col., 2002) (fig. 5.18).

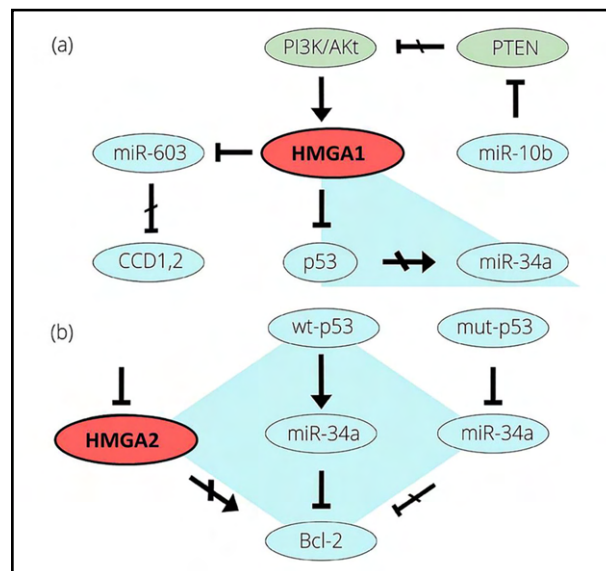


Fig. 5.18 Proteínas HMGA (Researchgate).

Los estudios de PCR de transcripción inversa, IHQ y western blot mostraron una sobreexpresión de **HMGA2** en varios prolactinomas con reordenamiento del cromosoma 12 (12q14-15). Se sugiere el papel crítico de la sobreexpresión de **HMGA2** en la generación de prolactinomas humanos (Finelli y col., 2002). Además, otros estudios informan que el grupo A2 de alta movilidad está regulado negativamente por la familia de microARN (**miARN**) **let-7** *in vitro*. La sobreexpresión de **HMGA2** se observó en el 39% de los adenomas hipofisarios (prolactinomas, corticotropinomas y gonadotropinomas) y se asoció a invasión tu-

moral en adenomas grado IV. Los hallazgos apoyan un vínculo causal entre **let-7** y el **HMGA1**, por lo que la pérdida de la expresión de **let-7** induce una regulación positiva de **HMGA2**, representando un mecanismo importante en la tumorigénesis hipofisaria (Qian y col., 2009). Se comunicó aumento de la expresión de **CCNB2** (gen que codifica la proteína **ciclina B2**) en adenomas pituitarios humanos de diferentes histotipos que se correlaciona con la expresión de **HMGA1** y **HMGA2** (De Martino y col., 2009).

Se demostró que la sobreexpresión de **HMGA1B** y **HMGA2** induce en ratones el desarrollo de somatotropinomas y prolactinomas, al aumentar la actividad transcripcional de **E2F1**. Estos adenomas mostraron niveles altos de **Pit-1** que es regulado por **HMGA1B** y **HMGA2**. El análisis de expresión de **HMGA1**, **HMGA2** y **PIT1** en adenomas pituitarios humanos de diferentes tipos histológicos reveló una correlación directa entre los niveles de expresión de **PIT1** y **HMGA**. Los datos indican un papel de la regulación positiva de **Pit1** por las proteínas **HMGA** en los tumores pituitarios (Palmieri y col., 2012a). El descenso de los **miARN** capaces de dirigirse a los genes **HMGA** podría contribuir a aumentar los niveles de proteína **HMGA** en los adenomas hipofisarios humanos, estimulando la tumorigénesis hipofisaria (Palmieri y col., 2012b).

La amplificación y sobreexpresión del gen **HMGA2** en prolactinomas humanos y el desarrollo de adenomas hipofisarios en ratones transgénicos **HMGA2** mostraron que **HMGA2** juega un rol crucial en la tumorigénesis hipofisaria. Se exploró la vía **pRB/E2F1** para investigar el mecanismo por el cual actúa **HMGA2**. Se demostró que **HMGA2** interactúa con **pRB** e induce la actividad de **E2F1** en adenomas pituitarios de ratón al desplazar **HDAC1** del complejo **pRB/E2F1**, un proceso que da como resultado la acetilación de **E2F1**. Se halló que la pérdida de la función **E2F1** suprimió la tumorigénesis pituitaria en ratones **HMGA2**. Por tanto, la activación de **E2F1** mediado por **HMGA2** es un evento crucial en la aparición de estos tumores en ratones transgénicos y probablemente también en prolactinomas humanos (Fedele y col., 2006).

5.3.9 *GADD45*γ (fig. 5.19)

Es un miembro de una familia de genes inducibles por daños en el ADN y detención del crecimiento que funciona en la regulación negativa de la proliferación celular. Se comunicó que la expresión de ARNm del gen **GADD45**γ es significativamente diferente entre el tejido pituitario humano normal y los adenomas hipofisarios no funcionantes. El **GADD45**γ controla la proliferación de células pituitarias y su expresión se pierde en la mayoría de los tumores pituitarios humanos (somatotropinomas y prolactinomas), debido a la hipermetilación de su promotor (Zhang y col., 2002) (fig. 5.19).

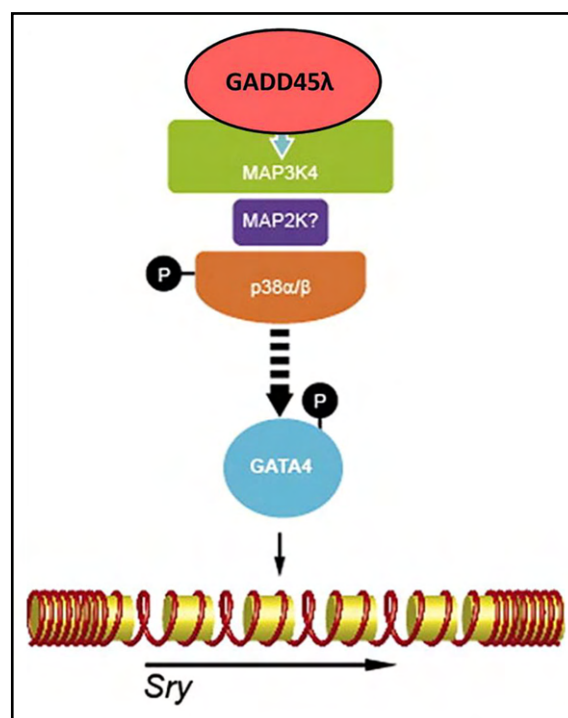


Fig. 5.19 **GADD45**γ (Science Direct).

En los gonadotropinomas se detectó una expresión reducida de **GADD45γ** (Michaelis y col., 2011). La pérdida de función del supresor tumoral **DKC1** perturba el traslado de **p27** y contribuye a la tumorigénesis pituitaria.

5.3.10 MEG3 (fig. 5.20)

Es un potente inhibidor de la proliferación celular que se pierde en los tumores pituitarios por la hipermetilación de su promotor (Zhao y col., 2005). El gen 3 expresado por la madre (**MEG3**) es un gen impreso que pertenece al locus **DLK1-MEG3** localizado en el cromosoma 14q32.3 en humanos. El gen **MEG3** codifica un ARN largo no codificante (**lncRNA**) y se expresa en muchos tejidos normales. Múltiples mecanismos contribuyen a la pérdida de la expresión de **MEG3** en tumores, incluida la delección de genes, la hipermetilación del promotor y la hipermetilación de la región intergénica metilada. La reexpresión de **MEG3** inhibe la proliferación de células tumorales en cultivo y la formación de colonias. Esta inhibición del crecimiento es en parte el resultado de la *apoptosis* inducida por **MEG3** que induce la expresión del gen diana de **p53**. La inactivación de **MEG3** conduce a un aumento en la expresión de genes promotores de la *angiogénesis*. Se sugiere que **MEG3** funciona como un nuevo supresor de tumores de **lncRNA** (Zhou y col., 2012).

Para identificar los mecanismos patogénicos subyacentes a la tumorigénesis, se comparó la diferencia en la expresión génica entre el tejido pituitario humano normal y los adenomas hipofisarios no funcionantes mediante el análisis de diferencias representacionales de **ADNc**. Una isoforma de **MEG3** funciona como un supresor del crecimiento de células tumorales. Se expresó en gonadotropas de humanos normales. El análisis genómico reveló que **MEG3** está ubicado en el cromosoma 14q32.3, un sitio que se ha predicho que contiene un gen supresor de tumores involucrado en la patogénesis de los meningiomas. El **MEG3** funcionaría como un supresor del crecimiento desempeñando un rol importante en el desarrollo de adenomas hipofisarios humanos (Zhang y col., 2003). Se comunicó que el ciclo celular está regulado por varios inhibidores, incluido **p27** que al unirse a los complejos de quinasa dependientes de ciclina (**CDK**), controla la progresión de la fase **G1** a la **S**. Se ha informado que los ratones *knockout* para **p27** desarrollan corticotropinomas. En los estudios de IHQ se registró un nivel más bajo de expresión de la proteína **p27** en las células normales respecto a las de los adenomas hipofisarios con transformación maligna, llegando a la pérdida completa de su inmunorreactividad. Las células corticotropas y los corticotropinomas tienen una tinción baja de **p27** (Lidhar y col. (1999)). La delección de la proteína **F-box SKP2** o la inhibición de la fosforilación de **p27/Kip1**, induce *apoptosis* y bloquea la tumorigénesis inducida por deficiencia de **pRb** (Bauzon y Zhu, 2010).

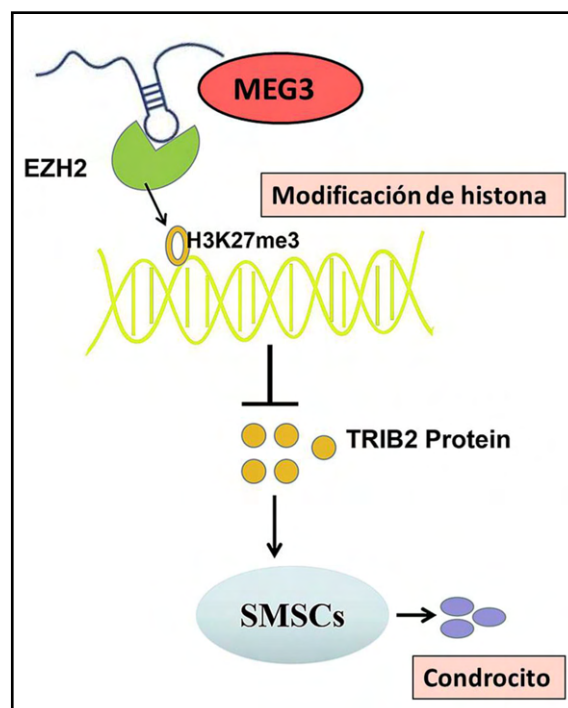


Fig. 5.20 MEG3 (Science Direct).

5.4 Factores angiogénicos (fig. 5.21)

El proceso de *angiogénesis* (fisiológica o patológica) se explica por la formación de vasos sanguíneos debida a la migración/proliferación de células endoteliales y tiene implicancias terapéuticas (Folkman, 1971; Berner y col., 2013). La hipófisis es una glándula muy vascularizada. Las *arterias hipofisarias superiores* provienen de las arterias carótidas internas y el tronco meníngeo hipofisario nace de la carótida intracavernosa dando origen a las ramas *hipofisarias inferiores* que drenan en un sistema portal. Este sistema rodea al tallo hipofisario y se comunica con los capilares del lóbulo anterior, permitiendo el transporte de factores hipotalámicos a la pituitaria y las hormonas del lóbulo anterior pasan a la circulación general. El flujo venoso drena a través de vasos colectores que van a los senos venosos coronales subhipofisarios, los senos cavernosos y en el seno circular superior (Folkman, 1990).

El proceso de **angiogénesis** es mediado por el **factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)** y el **factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF-2)**. Dichos factores son liberados por las células neoplásicas e inducen el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos que proveen nutrientes para el crecimiento tumoral. Se han detectado diferentes patrones angiogénicos (Gibo y col., 1988; Di Ieva y col., 2008; Pizarro y col., 2009).

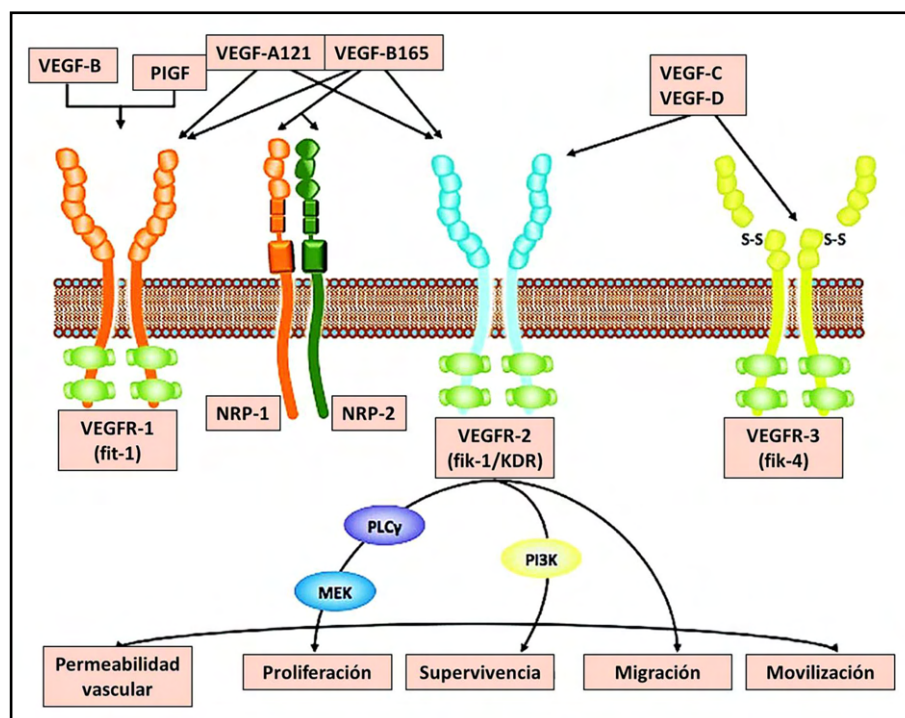


Fig. 5.21 VEGF (Researchgate).

El proceso de angiogénesis fue investigado mediante la medición de **VEGF** y **FGF-2**, la densidad microvascular (MVD) y el área vascular (marcadores endoteliales como **CD31** y **CD34** (Lloyd y col., 1999, Turner y col., 2003; Viacava y col., 2003). Los estudios en ratones *knockout* del receptor dopaminérgico D2 respecto a los ratones tipo salvaje mostraron que el **VEGF** hipofisario está aumentado y el **FGF-2** disminuido, en los prolactinomas resistentes (Cristina y col., 2005; 2006; 2007; Molitch, 2005; Luque y col., 2011). Los resultados son indicativos de la existencia de *angiogénesis* en los adenomas hipofisarios por lo que su bloqueo podría agregarse a las terapias convencionales.

Concluyendo, las alteraciones en los biomarcadores moleculares de la tumorigénesis pituitaria aportan nuevas estrategias para el tratamiento futuro de los adenomas hipofisarios.

Referencias

- Abbud RA et al. Early multipotential pituitary focal hyperplasia in the alpha-subunit of glycoprotein hormone-driven pituitary tumor-transforming gene transgenic mice. *Mol Endocrinol* 19:1383-1391, 2005.
- Agarwal SK et al. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1826-834, 2009.
- Bai F et al. p18Ink4c, but not p27Kip1, collaborates with Men1 to suppress neuroendocrine organ tumors. *Mol Cell Biol* 27:1495-1504, 2007.
- Bamberger CM et al. Reduced expression levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 in human pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 140:250-255, 1999.
- Bauzon F, Zhu L. Racing to block tumorigenesis after pRb loss: an innocuous point mutation wins with synthetic lethality. *Cell Cycle* 9:2118-2123, 2010.
- Beckers A et al. Las causas y consecuencias del gigantismo hipofisario. *Nat Rev Endocrinol* 14(12):705-720, 2018.
- Bellodi C et al. Loss of function of the tumor suppressor DKC1 perturbs p27 translation control and contributes to pituitary tumorigenesis. *Cancer Res* 70:6026-6035, 2010.
- Bernal JA et al. Human securin interacts with p53 and modulates p53-mediated transcriptional activity and apoptosis. *Nat Genet* 32:306-311, 2002.
- Besson A et al. Discovery of an oncogenic activity in p27Kip1 that causes stem cell expansion and a multiple tumor phenotype. *Genes Dev* 21:1731-1746, 2007.
- Bi LW et al. Alteraciones genómicas en tumores hipofisarios esporádicos. *Curr Neurol Neurosci Rep* 18(1):4, 2018.
- Boutros R et al. CDC25 phosphatases in cancer cells: key players? Good targets? *Nat Rev Cancer* 7:495-507, 2007.
- Brugarolas J et al. p21 is a critical CDK2 regulator essential for proliferation control in Rb-deficient cells. *J Cell Biol* 141:503-514, 1998.
- Caffarini M et al. Adenomas hipofisarios, células madre y células madre cancerosas: ¿qué hay de nuevo? *J Endocrinol Invest* 41(7):745-753, 2018.
- Caimari F, Korbonits M. Nuevas causas genéticas de adenomas hipofisarios. *Clin Cancer Res* 22(20):5030-5042, 2016.
- Carreño et al. Células madre y su papel en la tumorigénesis hipofisaria. *Mol Cell Endocrinol* 445:27-34, 2017.
- Castro A et al. The anaphase-promoting complex: a key factor in the regulation of cell cycle. *Oncogene* 24:314-325, 2005.
- Cerovac V et al. The somatostatin analogue octreotide confers sensitivity to rapamycin treatment on pituitary tumor cells. *Cancer Res* 70:666-674, 2010.
- Chambers TJ et al. Señalización Wnt en el desarrollo hipofisario y tumorigénesis. *Endocr Relat Cancer* 20(3):R101-11, 2013.
- Chesnokova V et al. p21 (Cip1) restrains pituitary tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17498-17503, 2008.
- Chesnokova V et al. Pituitary hypoplasia in Pttg -/- mice is protective for Rb +/- pituitary tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 19:2371-2379, 2005.
- Chesnokova V et al. Senescence mediates pituitary hypoplasia and restrains pituitary tumor growth. *Cancer Res* 67:10564-10572, 2007.
- Cristina C et al. Fibroblast Growth Factor-2 in hyperplastic pituitaries of D2R knockout female mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293:E1341-E1351, 2007.
- Cristina C et al. Increased pituitary vascular endothelial growth factor-A in dopaminergic D2 receptor knockout female mice. *Endocrinology* 146:2952-2962, 2005.

- Cristina C et al. The dopaminergic D2 receptor knockout mouse: an animal model of prolactinoma. *Front Horm Res* 35: 50-63, 2006.
- Cryns VL et al. The retinoblastoma gene in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 77:644-646, 1993.
- Dahia PL et al. Mutation and expression analysis of the p27/kip1 gene in corticotrophin-secreting tumours. *Oncogene* 16:69-76, 1998.
- De Martino I et al. HMGA proteins up-regulate CCNB2 gene in mouse and human pituitary adenomas. *Cancer Res* 69:1844-1850, 2009.
- Di Ieva A et al. Euclidean and fractal geometry of microvascular networks in normal and neoplastic pituitary tissue. *Neurosurg Rev* 31: 271-281, 2008.
- Diffley JF. Regulation of early events in chromosome replication. *Curr Biol* 14:R778-R786, 2004.
- Domínguez A et al. hPTTG, a human homologue of rat PTTG, is overexpressed in hematopoietic neoplasms. Evidence for a transcriptional activation function of hPTTG. *Oncogene* 17:2187-2193, 1998.
- Donangelo I et al. Pituitary tumor transforming gene overexpression facilitates pituitary tumor development. *Endocrinology* 147:4781-4791, 2006.
- Doonan JH, Kitsios G. Functional evolution of cyclin-dependent kinases. *Mol Biotechnol* 42:14-29, 2009.
- Dworakowska D, Grossman AB. The pathophysiology of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:525-541, 2009.
- Elston MS et al. Familial pituitary tumor syndromes. *Nat Rev Endocrinol* 5:453-461, 2009.
- Elston MS et al. Wnt pathway inhibitors are strongly down-regulated in pituitary tumors. *Endocrinology* 149:1235-1242, 2008.
- Ezzat S. El papel de las hormonas, los factores de crecimiento y sus receptores en la tumorigénesis pituitaria. *Brain Pathol* 11(3):356-70, 2001.
- Fedele M et al. Overexpression of the HMGA2 gene in transgenic mice leads to the onset of pituitary adenomas. *Oncogene* 21:3190-3198, 2002.
- Fedele M et al. HMGA2 induce la tumorigénesis pituitaria al mejorar la actividad de E2F1. *Cancer Cell* 9: 459- 471, 2006.
- Feng Y et al. MicroARN y genes diana en adenomas hipofisarios. *Horm Metab Res* 50(3):179-192, 2018.
- Fero ML et al. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27 (Kip1)-deficient mice. *Cell* 85:733-744, 1996.
- Filippella M et al. Pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression correlates with the proliferative activity and recurrence status of pituitary adenomas: a clinical and immunohistochemical study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65:536-543, 2006.
- Finelli P et al. The High Mobility Group A2 gene is amplified and overexpressed in human prolactinomas. *Cancer Res* 62:2398-2405, 2002.
- Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285:1182-1186, 1971.
- Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 82:4-6, 1990.
- Foltran RK et al. Estudio de los principales factores genéticos implicados en la tumorigénesis hipofisaria y su impacto en las características clínicas y biológicas de los somatotropinomas esporádicos y los adenomas hipofisarios no funcionantes. *Braz J Med Biol Res* 51(9):e7427, 2018.
- Franklin DS et al. CDK inhibitors p18 (INK4c) and p27 (Kip1) mediate two separate pathways to collaboratively suppress pituitary tumorigenesis. *Genes Dev* 12:2899-2911, 1998.
- Franklin DS et al. Functional collaboration between different cyclin-dependent kinase inhibitors suppresses tumor growth with distinct tissue specificity. *Mol Cell Biol* 20:6147-6158, 2000.
- Fresh D, Pagano M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta TrCP: tipping the scales of cancer. *Nat Rev Cancer* 8:438-449, 2008.
- Gadelha MR et al. Vía novedosa para los análogos de la somatostatina en pacientes con acromegalia. *Tend Endocrinol Metab* 24(5):238-46, 2013.

- García-Fernández RA et al. Combined loss of p21 (waf1/cip1) and p27 (kip1) enhances tumorigenesis in mice. *Lab Invest* 91:1634-1642, 2011.
- Gaston-Massuet C et al. El aumento de la señalización de Wnt en las células madre/progenitoras pituitarias da lugar a tumores pituitarios en ratones y humanos. *Proc Natl Acad Sci USA* 108(28):11482-7, 2011.
- Georgitsi M et al. Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3321-3325, 2007.
- Gibo H et al. Microsurgical anatomy of the arteries of the pituitary stalk and gland as viewed from above. *Acta Neurochirurgica* 90:60-66, 1988.
- Gil-Bernabé AM et al. Protein phosphatase 2A stabilizes human securin, whose phosphorylated forms are degraded via the SCF ubiquitin ligase. *Mol Cell Biol* 26:4017-4027, 2006.
- Hara M et al. Great wall kinase and cyclin B-Cdk1 are both critical constituents of M-phase-promoting factor. *Nat Commun* 3:1059, 2012.
- Harris J et al. Mecanismos en Endocrinología: Factores de transcripción pioneros en el desarrollo hipofisario y en la tumorigénesis. *J Eur J Endocrinol* 184(1): R1-R15, 2021.
- Heaney AP et al. Expression of pituitary-tumour transforming gene in colorectal tumours. *Lancet* 355:716-719, 2000.
- Hibberts NA et al. Analysis of cyclin D1 (CCND1) allelic imbalance and overexpression in sporadic human pituitary tumors. *Clin Cancer Res* 5:2133-2139, 1999.
- Honda S et al. Human pituitary adenomas infrequently contain inactivation of retinoblastoma 1 gene and activation of cyclin dependent kinase 4 gene. *Endocr J* 50(3): 309-318, 2003.
- Hu N et al. Heterozygous Rb-1 delta 20/+ mice are predisposed to tumors of the pituitary gland with a nearly complete penetrance. *Oncogene* 9:1021-1027, 1994.
- Hunter JA et al. The relationship between pituitary tumour transforming gene (PTTG) expression and in vitro hormone and vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from human pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 148:203-211, 2003.
- Jacks T et al. Effects of an Rb mutation in the mouse. *Nature* 359:295-300, 1992.
- Jordan S et al. Cyclin D and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *Eur J Endocrinol* 143:R1-6, 2000.
- Kanakis D et al. Promoter mutations are no major cause of PTTG overexpression in pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58:151-155, 2003.
- Karnik SK et al. Menin regulates pancreatic islet growth by promoting histone methylation and expression of genes encoding p27Kip1 and p18INK4c. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:14659-14664, 2005.
- Kirsch M et al. Frequent loss of the CDKN2C (p18INK4c) gene product in pituitary adenomas. *Gene Chromosome Canc* 48:143-154, 2009.
- Kiyokawa H et al. Enhanced growth of mice lacking the cyclin-dependent kinase inhibitor function of p27(Kip1). *Cell* 85:721-732, 1996.
- Korbonits M et al. Expression of phosphorylated p27 (Kip1) protein and Jun activation domain-binding protein 1 in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2635-2643, 2002.
- Lidhar K et al. Low expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in normal corticotroph cells, corticotroph tumors, and malignant pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3823-3830, 1999.
- Limón-Mortés MC et al. UV-induced degradation of securin is mediated by SKP1-CUL1-beta TrCP E3 ubiquitin ligase. *J Cell Sci* 121:1825-1831, 2008.
- Lin HK et al. El direccionamiento Skp2 suprime la tumorigénesis por senescencia celular independiente de Arf p53. *Nature* 464: 374-379, 2010.
- Liu NA et al. Targeting zebrafish and murine pituitary corticotroph tumors with a cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:8414-8419, 2011.
- Lloyd RV et al. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression in Human Pituitary Adenomas and Carcinomas. *Endocr Pathol* 10:229-235, 1999.

- Lu Z, Hunter T. Degradation of activated protein kinases by ubiquitination. *Annu Rev Biochem* 78:435-475, 2009.
- Luque GM et al. Inhibitory effects of anti-VEGF strategies in experimental dopamine resistant prolactinomas. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2011.
- Machiavelli G et al. Expression of p16(INK4A) gene in human pituitary tumours. *Pituitary* 11:71-75, 2008.
- Malumbres M, Barbacid M. Mammalian cyclin-dependent kinases. *Trends Biochem Sci* 30:630-641, 2005.
- Martins et al. Reguladores traslacionales p27/CDKNB1 en la tumorogénesis hipofisaria. *Horm Metab Res* 48(12):840-846, 2016.
- McCabe CJ et al. Expression of pituitary tumour transforming gene (PTTG) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in human pituitary adenomas: relationships to clinical tumour behaviour. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58:141-150, 2003.
- Melmed S. Mecanismos de la tumorogénesis hipofisaria: la hipófisis plástica. *J Clin Invest* 112(11):1603-18, 2003.
- Melmed S. Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol* 7:257-266, 2011.
- Mete O, Ezzat S, Asa SL. Biomarkers of aggressive pituitary adenomas. *J Mol Endocrinol* 49:R69-78, 2012.
- Michaelis KA et al. Identification of growth arrest and DNA-damage-inducible gene beta (GADD45beta) as a novel tumor suppressor in pituitary gonadotrope tumors. *Endocrinology* 152:3603-3613, 2011.
- Milne TA et al. Menin and MLL cooperatively regulate expression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:749-54, 2005.
- Mitra J, Enders GH. Cyclin A/Cdk2 complexes regulate activation of Cdk1 and Cdc25 phosphatases in human cells. *Oncogene* 23:3361-3367, 2004.
- Molatore S et al. A novel germline CDKN1B mutation causing multiple endocrine tumors: clinical, genetic and functional characterization. *Hum Mutat* 31:E1825-E1835, 2010.
- Molitch ME. Pharmacologic resistance in prolactinoma patients. *Pituitary* 8:43-52, 2005.
- Mora-Santos M et al. Glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) negatively regulates PTTG1/human securin protein stability, and GSK3beta inactivation correlates with securin accumulation in breast tumors. *J Biol Chem* 286:30047-30056, 2011.
- Mora-Santos M et al. A single mutation in Securin induces chromosomal instability and enhances cell invasion. *Eur J Cancer* 49:500-510, 2013.
- Morgan DO. *The cell cycle principles of control*. London: Oxford University Press, 2007.
- Morris DG et al. Differential gene expression in pituitary adenomas by oligonucleotide array analysis. *Eur J Endocrinol* 153:143-151, 2005.
- Musacchio A, Salmon ED. The spindle-assembly checkpoint in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:379-393, 2007.
- Musat M et al. Cyclins and their related proteins in pituitary tumorigenesis. *Mol Cell Endocrinol* 326:25-29, 2010.
- Musat M et al. The expression of the F-box protein Skp2 is negatively associated with p27 expression in human pituitary tumors. *Pituitary* 5:235-242, 2002.
- Nakayama K et al. Mice lacking p27 (Kip1) display increased body size, multiple organ hyperplasia, retinal dysplasia, and pituitary tumors. *Cell* 85:707-720, 1996.
- Neto AG et al. Elevated expression of p21 (WAF1/Cip1) in hormonally active pituitary adenomas. *Ann Diagn Pathol* 9:6-10, 2005.
- Nguyen H, Gitig DM, Koff A. Cell-free degradation of p27 (kip1), a G1 cyclin-dependent kinase inhibitor, is dependent on CDK2 activity and the proteasome. *Mol Cell Biol* 19:1190-1201, 1999.
- Noh TW et al. Predicting recurrence of nonfunctioning pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 94:4406-4413, 2009.
- Ogino A et al. The p15 (INK4b)/p16(INK4a)/RB1 pathway is frequently deregulated in human pituitary adenomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:398-403, 2005.

- Palmieri D et al. PIT1 upregulation by HMGA proteins has a role in pituitary tumorigenesis. *Endocr Relat Cancer* 19:123-135, 2012a.
- Palmieri D et al. Down regugeting microRNAs has a critical role inhuman pituitary tumorigenesis. *Oncogene* 31:3857-3865, 2012b.
- Park MS et al. p27 and Rb are on overlapping pathways suppressing tumorigenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:6382-6387, 1999.
- Pei L et al. 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* 55:1613-1616, 1995.
- Pei L, Melmed S. Isolation and characterization of a pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Mol Endocrinol* 11:433-441, 1997.
- Pei L. Identification of c-myc as a down-stream target for pituitary tumor-transforming gene. *J Biol Chem* 276:8484-8491, 2001.
- Pellegata NS et al. Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:15558-15563, 2006.
- Pepe S et al. Mutaciones en la línea germinal y en mosaico que causan tumores hipofisarios: aspectos genéticos y moleculares. *J Endocrinol* 240(2):R21-R45, 2019.
- Pfleghaar K et al. Securin is not required for chromosomal stability in human cells. *PLoS Biol* 3:e416, 2005.
- Pizarro CB et al. Evaluation of angiogenesis in 77 pituitary adenomas using endoglin as a marker. *Neuropathology* 29:40-44, 2009.
- Qian ZR et al. Overexpression of HMGA2 relates to reduction of the let-7 and its relationship to clinic-pathological features in pituitary adenomas. *Mod Pathol* 22:431-441, 2009.
- Quereda V, Malumbres M. Cell cycle control of pituitary development and disease. *J Mol Endocrinol* 42:75-86, 2009.
- Ramos-Morales F et al. Cell cycle regulated expression and phosphorylation of hpttg proto-oncogene product. *Oncogene* 19:403-409, 2000.
- Ramsey MR et al. Expression of p16Ink4a compensates for p18Ink4c loss in cyclin-dependent kinase 4/6-dependent tumors and tissues. *Cancer Res* 67:4732-4741, 2007.
- Rane SG et al. Germ line transmissionof the Cdk4 (R24C) mutation facilitates tumorigenesis and escape-from cellular senescence. *Mol Cell Biol* 22:644-656, 2002.
- Raverot G et al. Prognostic factors in prolactin pituitary tumors: clinical, histological, and molecular data from a series of 94 patients with a long postoperative follow-up. *J Clin Endocrinol Metab* 95:1708-1716, 2010.
- Rieder CL. Mitosis in vertebrates: the G2/M and M/A transitions and their associated checkpoints. *Chromosome Res* 19:291-306, 2011.
- Romero F et al. Securin is a target of the UV response pathway in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 24:2720-2733, 2004.
- Romero F et al. Human securin, hPTTG, is associated with Kuhetero dimer, the regulatory subunit of the DNA-dependent protein kinase. *Nucleic Acids Res* 29:1300-1307, 2002.
- Roussel-Gervais A et al. Cooperation between cyclin E and p27(Kip1) in pituitary tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 24:1835-1845, 2010.
- Saeger W et al. Cyclins D1 and D3 and topoisomerase II alpha in inactive pituitary adenomas. *Endocr Pathol* 12:39-47, 2001.
- Sáez C et al. hpttg is over-expressed in pituitary adenomas and other primary epithelial neoplasias. *Oncogene* 18:5473-5476, 1999.
- Sáez C et al. Prognostic significance of human pituitary tumor-transforming gene immunohistochemical expression in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1404-1409, 2006.
- Sheaff RJ et al. Cyclin E-CDK2 es un regulador de p27Kip1. *Genes Dev* 11: 1464-1478, 1997.

- Sheng AJJ et al. Información sobre la tumorigénesis pituitaria: desde la secuenciación de Sanger hasta la secuenciación de próxima generación y más allá. *Expert Rev Endocrinol Metab* 14(6):399-418, 2019.
- Simpson DJ et al. Aberrant expression of G1/S regulators is a frequent event in sporadic pituitary adenomas. *Carcinogenesis* 22:1149-1154, 2001.
- Simpson DJ et al. Hypermethylation of the p16/CDKN2A/MTSI gene and loss of protein expression is associated with nonfunctional pituitary adenomas but not somatotrophinomas. *Gene Chromosome Canc* 24:328-336, 1999.
- Simpson DJ et al. Loss of pRb expression in pituitary adenomas is associated with methylation of the RB1 CpG island. *Cancer Res* 60:1211-1216, 2000.
- Solbach C et al. PTTG mRNA expression in primary breast cancer: a prognostic marker for lymph node invasion and tumor recurrence. *Breast* 13:80-81, 2004.
- Sotillo R et al. Wide spectrum of tumors in knock-in mice carrying a Cdk4 protein insensitive to INK4 inhibitors. *EMBO J* 20:6637-6647, 2001.
- Sullivan M, Morgan DO. Finishing mitosis, one step at a time. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:894-903, 2007.
- Tanaka C et al. Infrequent mutations of p27Kip1 gene and trisomy 12 in a subset of human pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3141-3147, 1997.
- Theodoropoulou et al. Genes diana de ZAC1 y tumorigénesis pituitaria. *Mol Cell Endocrinol* 326(1-2):60-5, 2010.
- Tong Y, Tan Y, Zhou C, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene interacts with Sp1 to modulate G1/S cell phase transition. *Oncogene* 26:5596-5605, 2007.
- Turner HE et al. Angiogenesis in endocrine tumors. *Endocr Rev* 24:600-632, 2003.
- Uhlmann F. Secured cutting: controlling separase at the metaphase to anaphase transition. *EMBO Rep* 2:487-492, 2001.
- Vax VV et al. Activating point mutations in cyclin-dependent kinase 4 are not seen in sporadic pituitary adenomas, insulinomas or Leydig cell tumours. *J Endocrinol* 178:301-310, 2003.
- Viacava P et al. Microvascular density and vascular endothelial growth factor expression in normal pituitary tissue and pituitary adenomas. *J Endocrinol Invest* 26:23-28, 2003.
- Vlotides G et al. Gen transformador de tumores hipofisarios: fisiología e implicaciones para la tumorigénesis. *Endocr Rev* 28: 165-186, 2007.
- Wang Z et al. Mice lacking pituitary tumor transforming gene show testicular and splenic hypoplasia, thymic hyperplasia, thrombocytopenia, aberrant cell cycle progression, and premature centromere division. *Mol Endocrinol* 15:1870-1879, 2001.
- Wang Z et al. Pituitary tumor transforming gene-null male mice exhibit impaired pancreatic beta cell proliferation and diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:3428-3432, 2003.
- Wierinckx A et al. A diagnostic marker set for invasion, proliferation, and aggressiveness of prolactin pituitary tumors. *Endocr Relat Cancer* 14:887-900, 2007.
- Wierinckx A et al. MicroARN en tumores hipofisarios. *J Mol Cell Endocrinol* 7, 456: 51-61, 2017.
- Woloschak M, Yu A, Post KD. Frequent inactivation of the p16 gene in human pituitary tumors by gene methylation. *Mol Carcinog* 19:221-224, 1997.
- Yavropoulou MP et al. El papel de las vías de señalización Notch y Hedgehog en el desarrollo hipofisario y la patogenia de los adenomas hipofisarios. *Horm (Atenas)* 14 (1): 5-18, 2015.
- Yoshino A et al. Promoter hypermethylation profile of cell cycle regulator genes in pituitary adenomas. *J Neurooncol* 83:153-162, 2007.
- Yu R et al. Overexpressed pituitary tumor-transforming gene causes aneuploidy in live human cells. *Endocrinology* 144:4991-4998, 2003.
- Zhang X et al. Loss of expression of GADD45 gamma, a growth inhibitory gene, in human pituitary adenomas: implications for tumorigenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1262-1267, 2002.
- Zhang X et al. Pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 84:761-767, 1999.

- Zhang X et al. Structure, expression, and function of human pituitary tumor-transforming gene (PTTG). *Mol Endocrinol* 13:156-166, 1999.
- Zhang X et al. Una isoforma de MEG3 derivada de la pituitaria funciona como un supresor del crecimiento en las células tumorales. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5119– 5126, 2003.
- Zhao J et al. Hypermethylation of the promoter region is associated with the loss of MEG3 gene expression in human pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 90:2179-2186, 2005.
- Zhao H et al. La delección de Skp2 desenmascara una protección de p27 que bloquea la tumorigénesis en ausencia de los supresores de tumores pRb y p53. *Cancer Cell* 24: 645–659, 2013.
- Zhou C et al. E2F1 induce la expresión del gen transformador de tumores pituitarios (PTTG1) en tumores pituitarios humanos. *Mol Endocrinol* 23:2000-2012, 2009.
- Zhou Y et al. ARN no codificante de MEG3: un supresor de tumores. *J Mol Endocrinol* 48: R45-R53, 2012.
- Zhu J et al. Human pituitary adenomas show no loss of heterozygosity at the retinoblastoma gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 78:922-927, 1994.
- Zou H et al. Identification of a vertebrate sister-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis. *Science* 285:418-422, 1999.

CAPÍTULO 6

HISTOPATOLOGÍA HIPOFISARIA

6.1 Hipofisitis

- **Primarias:** existen tres categorías:

- a. **Hipofisitis linfocítica autoinmune.**
- b. **Hipofisitis granulomatosa.**
- c. **Hipofisitis xantomatosa.**

a. Hipofisitis linfocítica autoinmune

Entidad rara que afecta con más frecuencia a mujeres al final del embarazo o posparto, siendo muy rara en hombres. Tiene una base autoinmune, ya que se han demostrado anticuerpos contra las células hipofisarias. Se caracteriza por una infiltración linfocítica de la adenohipófisis, que en etapas posteriores de la enfermedad puede provocar atrofia del parénquima, grado variable de fibrosis y agregados linfoides.

En la **fig. 6.1** se ve infiltrado linfocítico denso que deja islas de células eosinófilas. PRL: dichas células son lactotropas. CD3: predominio de LT.

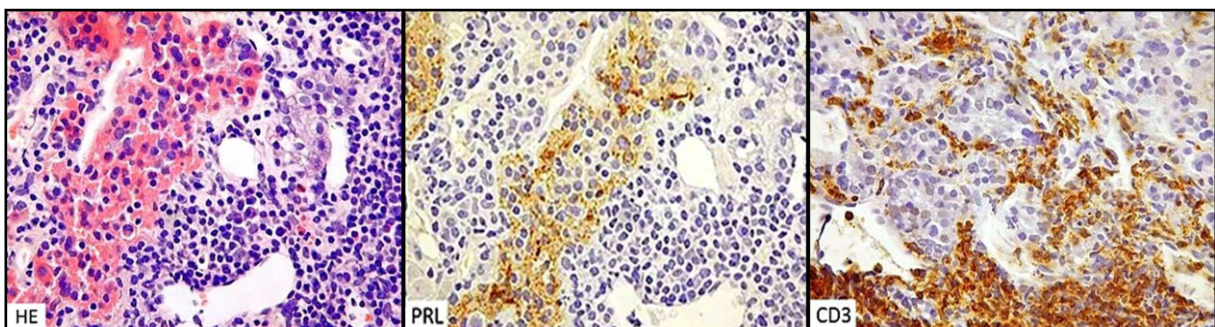


Fig. 6.1 Hipofisitis linfocítica: H-E: infiltrado linfocítico denso con islas de células eosinófilas. PRL: marcan como lactotropas. CD3: predominio de LT (Larkins S., Ansorge O).

b. Hipofisitis granulomatosa

Inflamación de la glándula pituitaria caracterizada por la presencia de granulomas con células gigantes. Presenta infiltrado linfoplasmocítico con histiocitos epitelioides y células gigantes multinucleadas. Puede haber necrosis.

Es un trastorno granulomatoso Idiopático (primario) o (secundario) a una enfermedad sistémica como sarcoidosis o granulomatosis de Wegener. Las etiologías infecciosas incluyen tuberculosis, sífilis y enfermedades fúngicas. Podría ser una manifestación crónica de una hipofisitis linfocítica.

- **Hipofisitis secundarias:** a procesos infecciosos sistémicos (sarcoidosis, tuberculosis), por lo que deben ser excluidos antes de un diagnóstico final de hipofisitis primaria.

6.2 Adenomas hipofisarios

Son neoplasias intracraneales frecuentes y pueden ser clínicamente silenciosos, detectarse de forma incidental en las imágenes por RM (~22%) o en autopsias (~14%). Se ha estimado que representan el 25% de todas las neoplasias intracraneales clínicamente manifestadas. Son neoplasias clonales benignas. De acuerdo al orden de frecuencia se citan: prolactinomas (25-41%), somatotropinomas (10-15%) y corticotropinomas (10%). Los demás tipos son menos frecuentes. Un tercio de los adenomas no son funcionantes y los funcionantes muestran un patrón hormonal específico.

Los adenomas hipofisarios muestran células con citoplasma granular, núcleos redondos con cromatina finamente dispersa y múltiples nucléolos. Expresan marcadores de los gránulos secretorios: sinaptofisina, cromogranina y de diferenciación epitelial: citoqueratinas. Aunque se denominan benignos, los adenomas hipofisarios pueden ser localmente invasivos y destructivos, o clínicamente malignos debido a las consecuencias metabólicas del exceso de secreción hormonal. También se han descrito atipias.

- **Criterios de clasificación de los adenomas hipofisarios:** clínicos, morfológicos y moleculares (fig. 6.2).

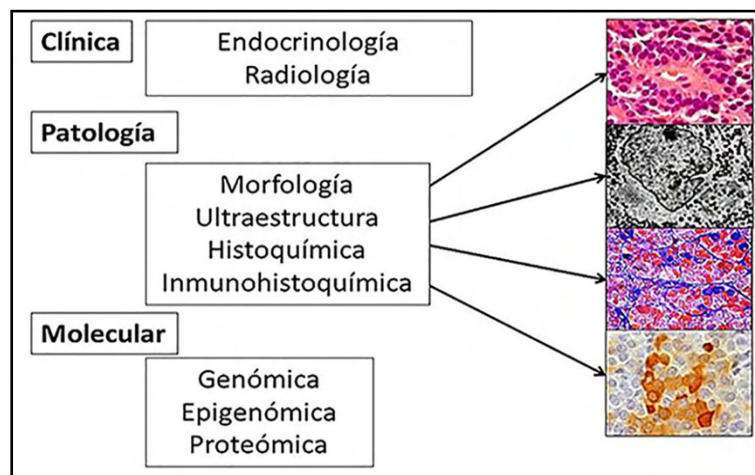


Fig. 6.2 Criterios de clasificación de los adenomas hipofisarios (NCBI)

Cuadro 6.1: secreción hormonal en los adenomas hipofisarios y **cuadro 6.2:** clasificación de los adenomas hipofisarios.

Cuadro 6.1 Secreción de hormonas en los adenomas hipofisarios.

TIPOS	%	ACTH	GH	LH/FSH	PRL	TSH	GSU
Prolactinoma	40				X		X
Adenoma cromóforo	25						
Somatotropinoma	14		X			X	X
Corticotropinoma	8	X			X		X
Mamosomatotropinoma	6		X		X		
Gonadotropinoma	6			X	X		
Tirotropinoma	1		X		X	X	
Adenoma plurihormonal	4		X	X	X	X	X

Cuadro 6.2: Clasificación de los adenomas hipofisarios.

TIPOS DE ADENOMAS	F. TRANSCRIPCIÓN	HORMONAS	CITOQUERATINA
SOMATOTROPINOMAS (GH)			
Densamente granulado	Pit-1	GH, α -SU	Difuso
Escasamente granulado	Pit-1	GH	Puntos
Mamosomatotropinoma (PRL-GH)	Pit-1, ER	GH, PRL, α -SU	Difuso
Mixto: somatotropo y lactotropo	Pit-1, ER	GH, PRL, α -SU	Difuso
PROLACTINOMAS (PRL)			
Escasamente granulado	Pit-1, ER	PRL (Golgi)	Difuso
Densamente granulado	Pit-1, ER	PRL (difuso)	Difuso
Adenoma células madre acidófilas	Pit-1, ER	PRL (difuso), GH	Raro
TIROTROPINOMAS (TSH)			
	Pozo-1, GATA-2	b-TSH, α -SU	Difuso
CORTICOTROPINOMAS (ACTH)			
Densamente granulado	Tpit	ACTH	Difuso
Escasamente granulado	Tpit	ACTH	Difuso
Adenoma células de Crooke	Tpit	ACTH	Anillos
GONADOTROPINOMAS			
	SF-1, GATA-2, ER	b-FSH, b-LH, α -SU	Difuso
ADENOMAS PLURIHORMONALES			
Adenoma silencioso tipo III	Pit-1 (?), ER	Múltiple	Difuso
Adenoma plurihormonal inusual	Múltiple	Múltiple	-
ADENOMA DE CÉLULAS NULAS			
	Ninguna	Ninguna	Difuso

Los adenomas se diferencian según la histoquímica: H-E, PAS, PAS-orange, reticulina:

- Acidófilos (orangiófilos, eosinófilos): células somatotropas y lactotropas (**fig. 6.3**).
- Basófilos (PAS+): células corticotropas, tirotropas, gonadotropas (**fig. 6.4**).
- Cromófobos: células sin gránulos secretorios (**fig. 6.5**).
- Oncocíticos (acidófilos): células con gran número de mitocondrias (**fig. 6.6**).
- Reticulina: diferenciación entre hiperplasia/tejido normal/adenoma (**fig. 6.7**).

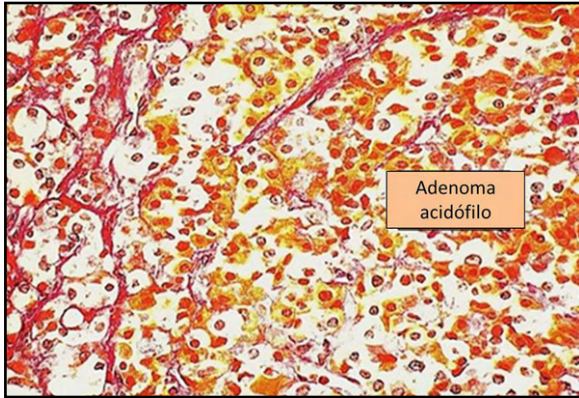


Fig. 6.3 Adenoma acidófilo: lactotropas/somatotropas orangiófilas (Atlas OMS, 1980).

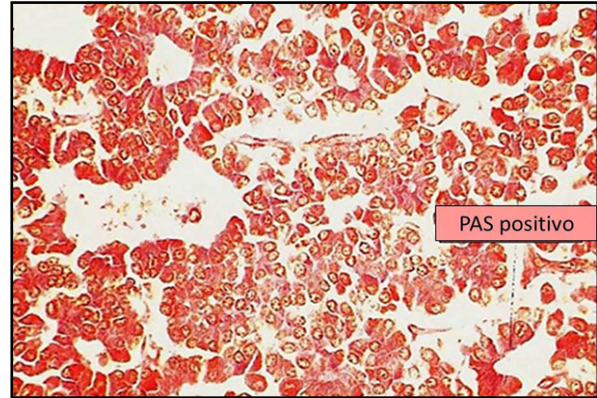


Fig. 6.4 Adenoma basófilo: PAS+ (Atlas OMS, 1980).

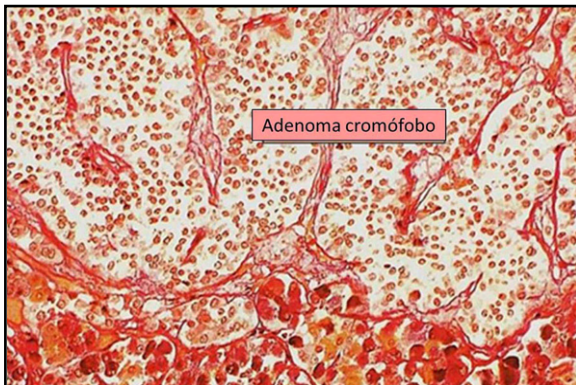


Fig. 6.5 Adenoma cromófobo: PAS-orange (Atlas OMS, 1980).

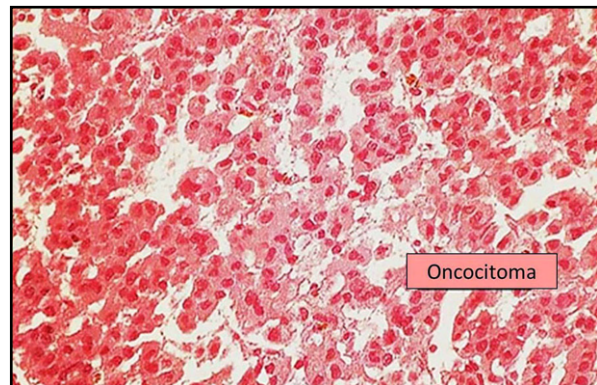


Fig. 6.6 Adenoma oncocítico: mitocondrias acidófilas. H-E (Atlas OMS, 1980).

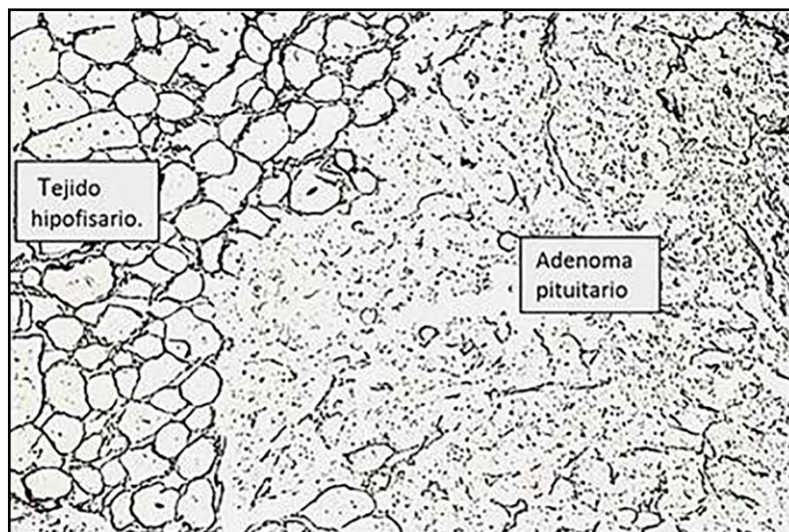


Fig. 6.7 Diferenciación entre adenoma y tejido normal (reticulina) (Atlas OMS, 1980).

En la **fig. 6.8** se presenta el porcentaje de adenomas hipofisarios y su origen.

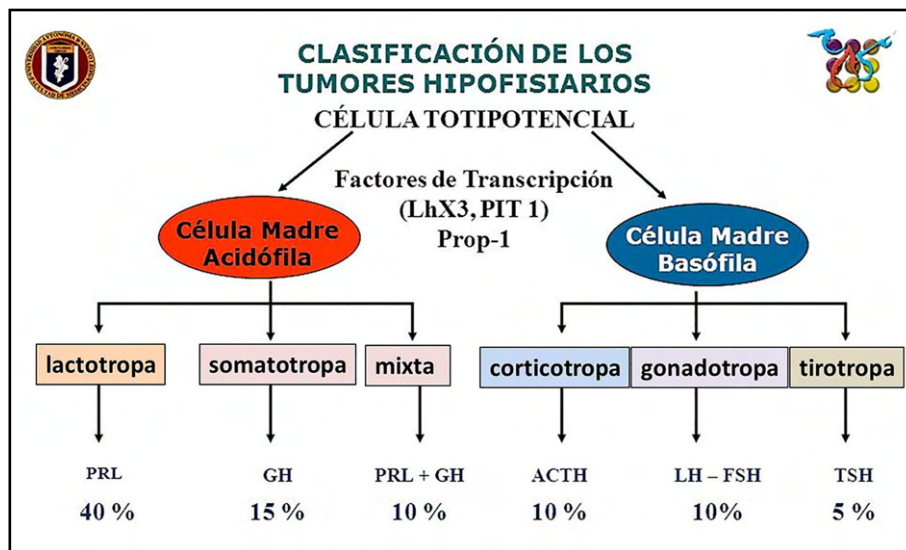


Fig. 6.8 Porcentaje de adenomas hipofisarios y origen (web).

6.2.1 Somatotropinomas

Frecuencia: 15%. Presentan células grandes con un citoplasma granular eosinófilo y un núcleo central con nucléolo prominente (**fig. 6.9**).

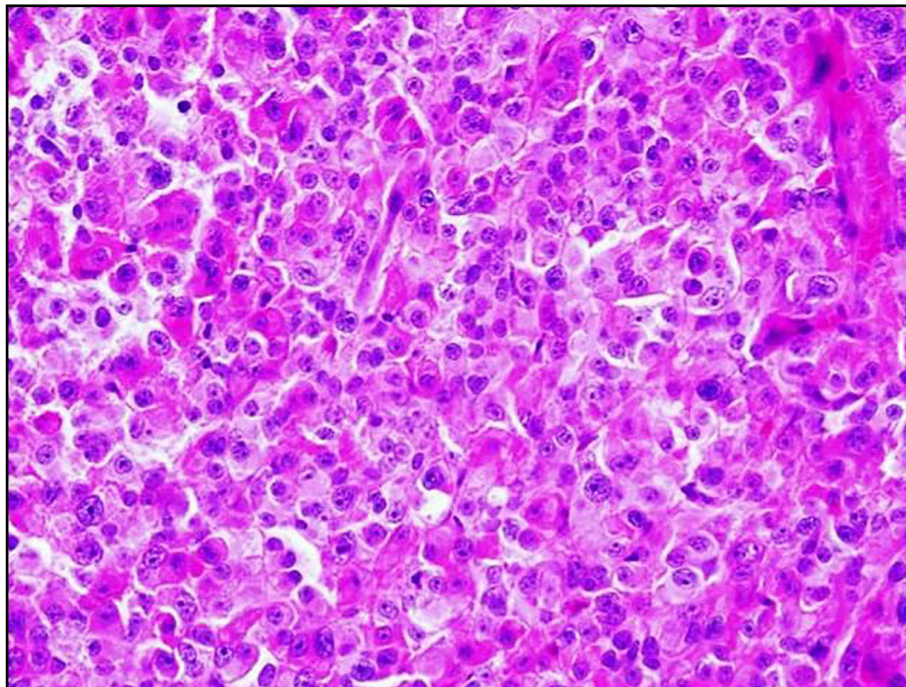


Fig. 6.9 Somatotropinoma (H-E) (Slideshow).

- **Somatotropinoma densamente granulado:** IHQ: marcación granular intensa y difusa. Positivo para GH (**fig. 6.10**).

- **Somatotropinoma escasamente granulado:** IHQ: GH heterogénea y menos intensa con *cuerpos fibrosos* (filamentos intermedios/RE citoqueratina +) (**fig. 6.11**).

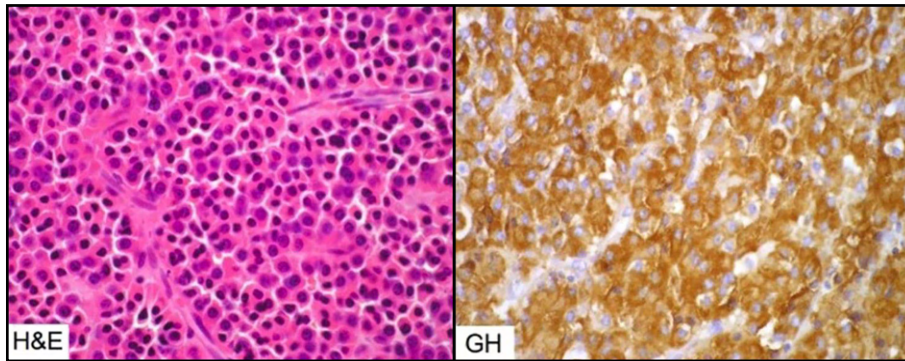


Fig. 6.10 Somatotropinoma densamente granulado (Larkins y Ansorge).

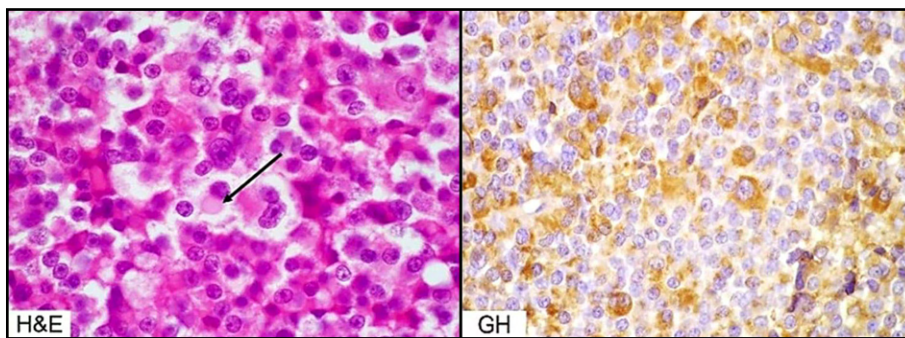


Fig. 6.11. Somatotropinoma escasamente granulado (Larkins y Ansorge).

En la **fig. 6.12** se muestra somatotropinoma con patrón arborescente.

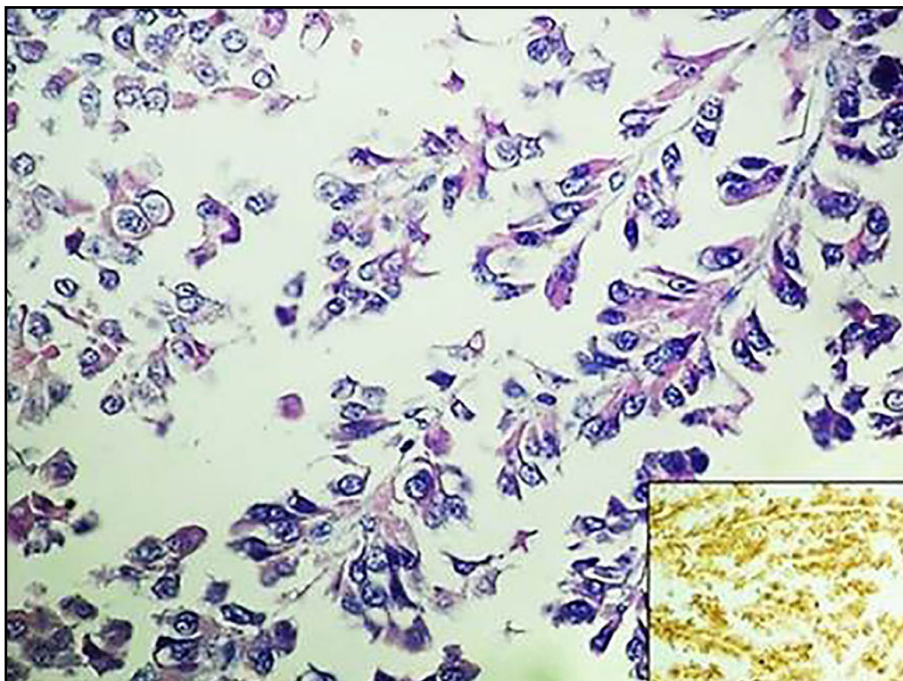


Fig. 6.12 Somatotropinoma: patrón arborescente. Recuadro IHQ: GH (Cónsole G, 2003).

Los somatotropinomas que han respondido a los análogos de la somatostatina muestran una degeneración hialina-fibrosa perivascular (fig. 6.13).

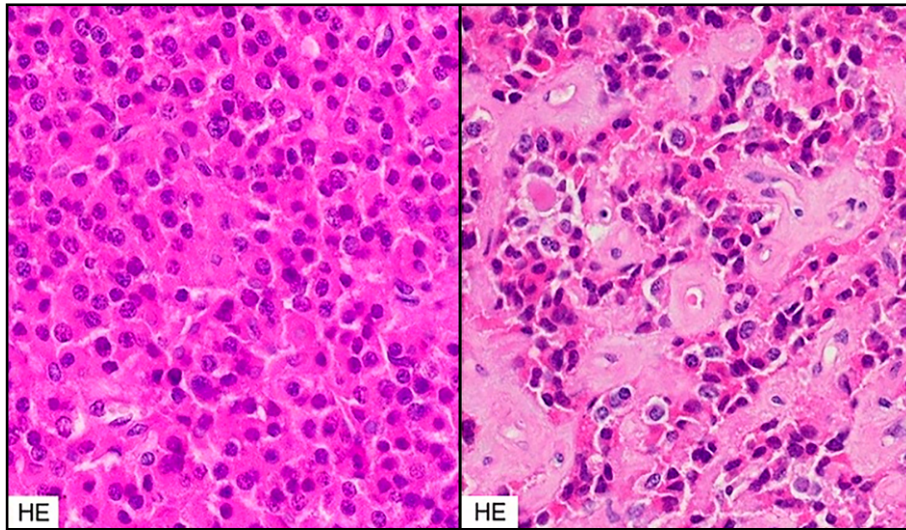


Fig. 6.13 Somatotropinoma: izq.: no tratado; der.: tratado (Larkins y Ansorge).

6.2.2 Prolactinomas

Son los adenomas más frecuentes (+ 40%). Inmunorreactivos para PRL: 41%. El diagnóstico se confirma por hiperprolactinemia y Rx (fig. 6.14).

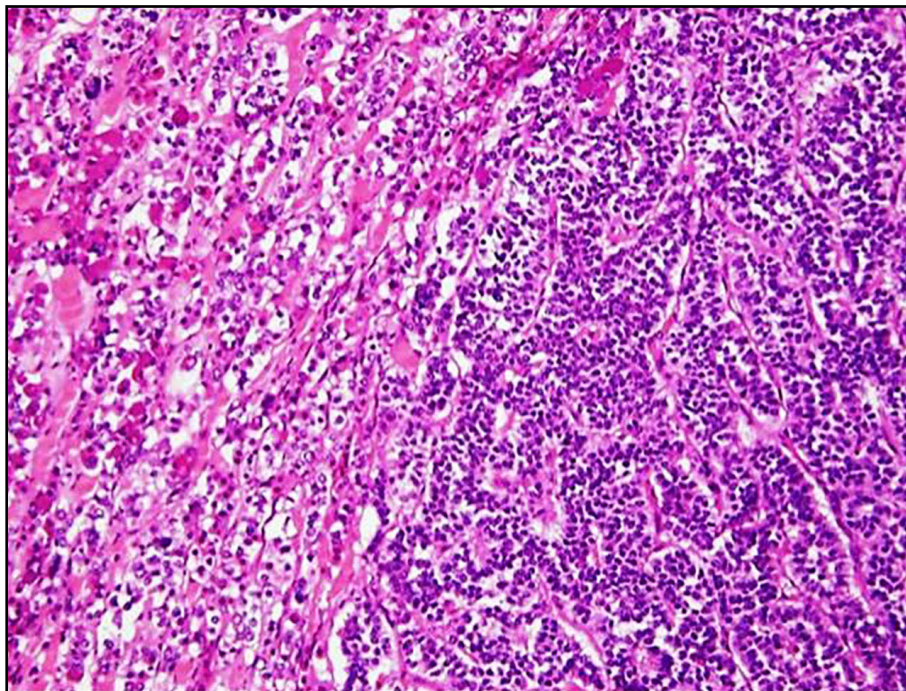


Fig. 6.14 Prolactinoma (slideshow).

Una de cada 10 personas muere con un prolactinoma sin diagnóstico. Los prolactinomas tienen mayor incidencia en mujeres en segunda y quinta década. Hay una relación 14:1 entre mujeres y hombres durante la tercera década. Después de la quinta década, la incidencia de prolactinomas es mayor en los hombres. Son más frecuentes los macroprolactinomas en los hombres y los microprolactinomas en las mujeres. **IHQ:**

muestra reactividad para PRL con un patrón de marcación perinuclear característico (patrón de Golgi). Los agonistas de la dopamina reducen el tumor. **Histología:** podemos encontrar células tumorales más pequeñas, con menos citoplasma, núcleos hipercromáticos y varios grados de fibrosis tumoral. **Ultraestructura:** los prolactinomas se dividen en densamente granulados (**fig. 6.15**) y escasamente granulados.

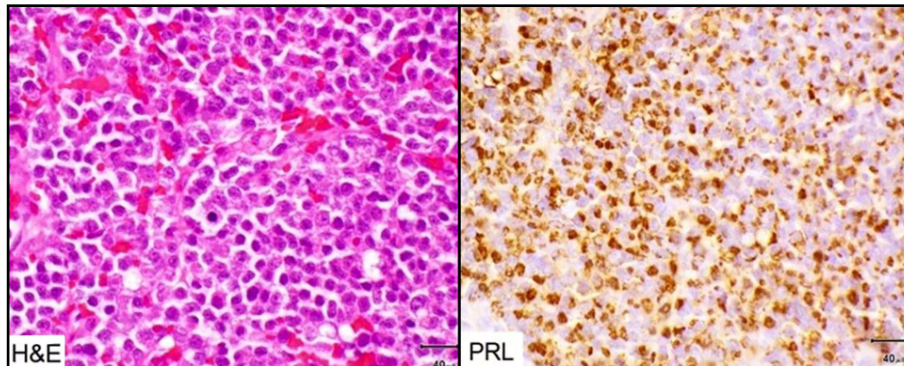


Fig. 6.15 Prolactinoma densamente granulado (Larkins y Ansorge).

En la **fig. 6.16** se presenta un prolactinoma tratado con bromocriptina. La droga induce fibrosis densa, condensación del citoplasma y núcleo de las células neoplásicas.

Izquierda: sin tratamiento, derecha: tratada.

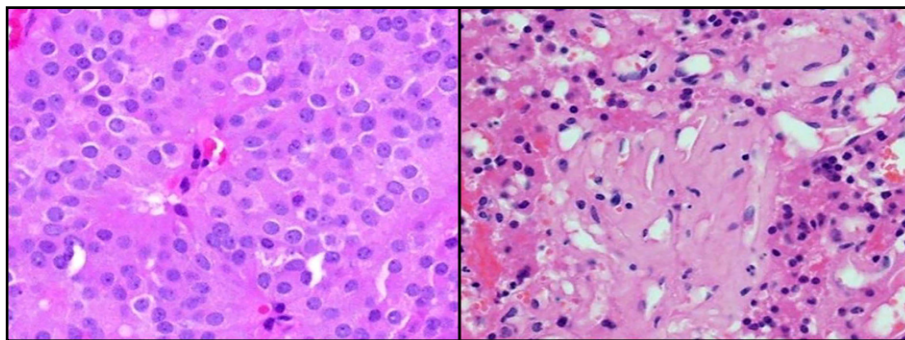


Fig. 6.16 Prolactinoma tratado con bromocriptina: fibrosis y reducción celular. Izq.: no tratado, der.: tratado (Larkins y Ansorge).

6.2.3 Mamosomatotropinomas

Son *adenomas mixtos* secretores de GH y PRL constituyen 8% de los adenomas hipofisarios. Los pacientes presentan signos y síntomas de ambos, acromegalia e hiperprolactinemia. El diagnóstico se hace por IHQ y ultraestructura, siendo su distinción fundamental, ya que tiene implicaciones clínicas y pronósticas. Existen tres subtipos:

a. Mixtos de células secretoras de GH y de células secretoras de PRL: inmunomarcán GH y PRL. Ultraestructura: hay dos poblaciones celulares separadas.

b. Células mamosomatotropas: raros: marcan GH y PRL en la misma célula tumoral.

c. Adenomas de células madre acidófilas: muy raros. Son cromóforos, con cambios oncócitos citoplasmáticos focales. IHQ: marcación para PRL, y en menor medida para GH, en el citoplasma de las mismas células tumorales. Microscopía electrónica: megamitocondrias, responsables de la apariencia oncócica en microscopía óptica.

6.2.4 Corticotropinomas

Secretores de ACTH asociados con enfermedad de Cushing. Representan 10-15% de los adenomas hipofisarios. Femenino (cuarta-quinta década) vs masculino 8:1.

Histología: células basófilas (PAS+) con citoplasma granular y núcleos redondos, en formaciones papilares. **IHQ:** tumores densamente granulados: intensa expresión citoplasmática difusa de ACTH+; cromófbos: positividad en parches (**figs. 6.17-6.18**).

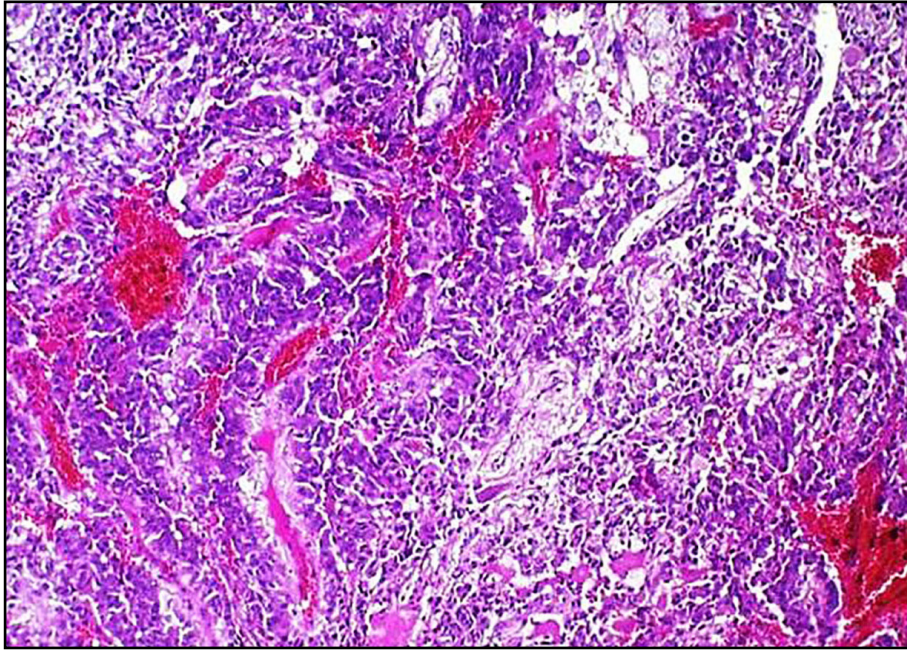


Fig. 6.17 Corticotropinoma: células basófilas (7° Congreso Virtual Hispanoam. Anat. Patol)

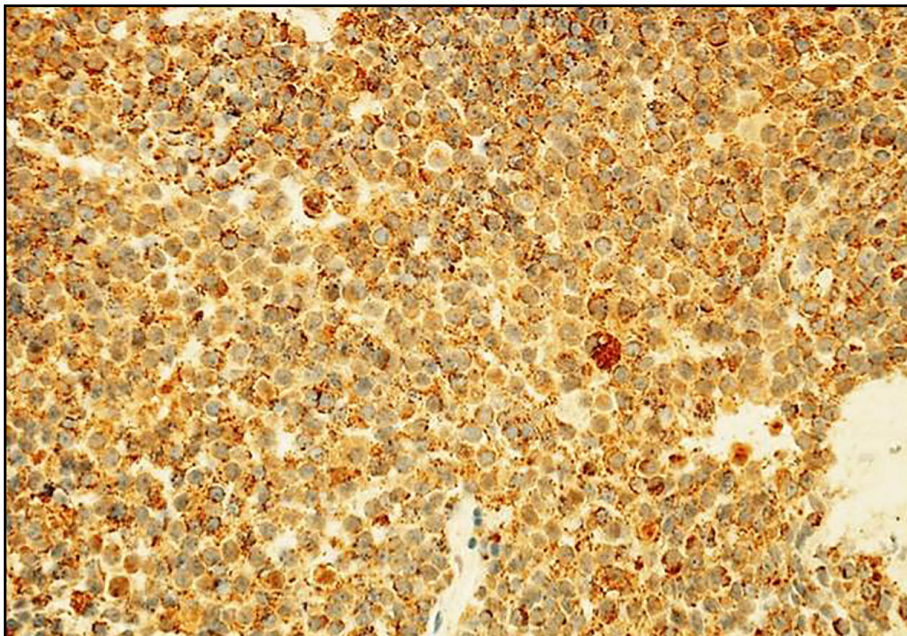


Fig. 6.18 Corticotropinoma: positivo para ACTH (slideshow).

- **Microadenomas corticotropos:** son nódulos microscópicos basófilos bien delimitados que destruyen la red de reticulina y muestran fuerte positividad difusa de ACTH (**fig. 6.19**).

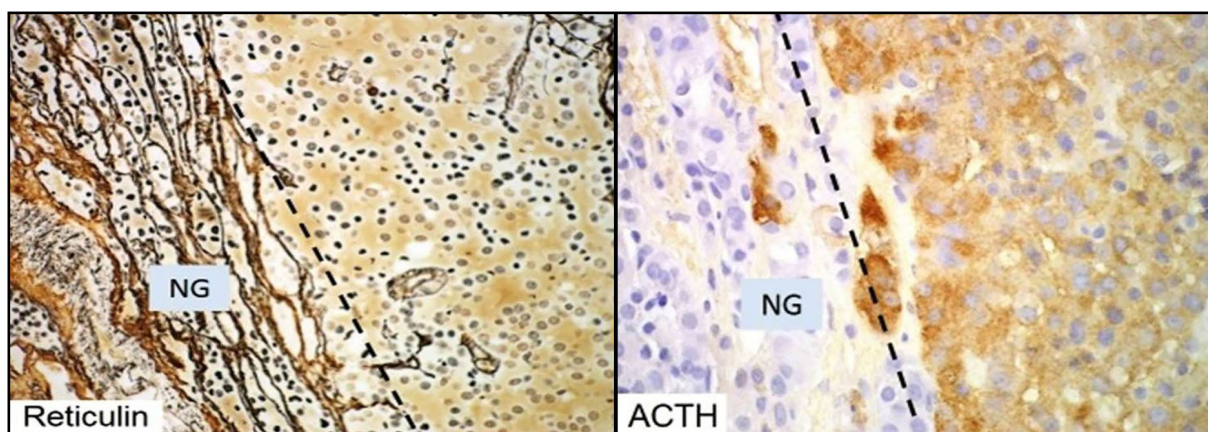


Fig. 6.19 Microadenomas corticotropos: ACTH+, destruyen red de reticulina. (Larkins y Ansorge).

- **Hiperplasia corticotropa:** causa enfermedad de Cushing. Red de reticulina: distendida pero intacta y acinos hipofisarios hiperplásicos con células basófilas ACTH+ (**fig. 6.20**).

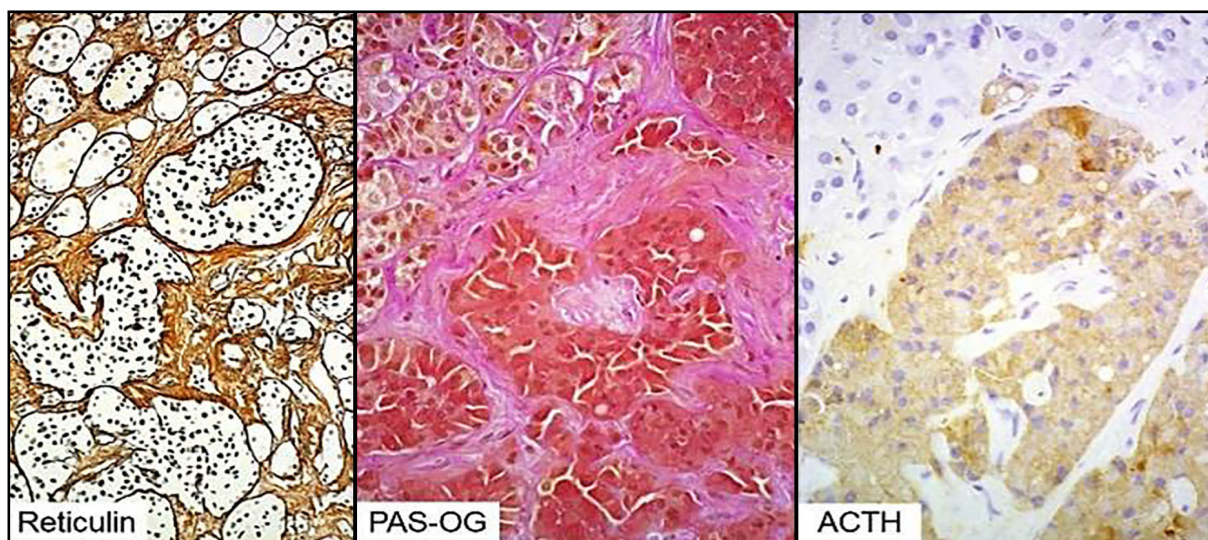


Fig. 6.20 Hiperplasia corticotropa (Larkins y Ansorge).

- **Cambio hialino de Crooke:** en células corticotropas no neoplásicas en respuesta a la hipercortisolemia. Se desarrollan anillos perinucleares hialinos ricos en citoqueratina: la degeneración hialina de Crooke (PAS y citoqueratina +) (**fig. 6.21**).

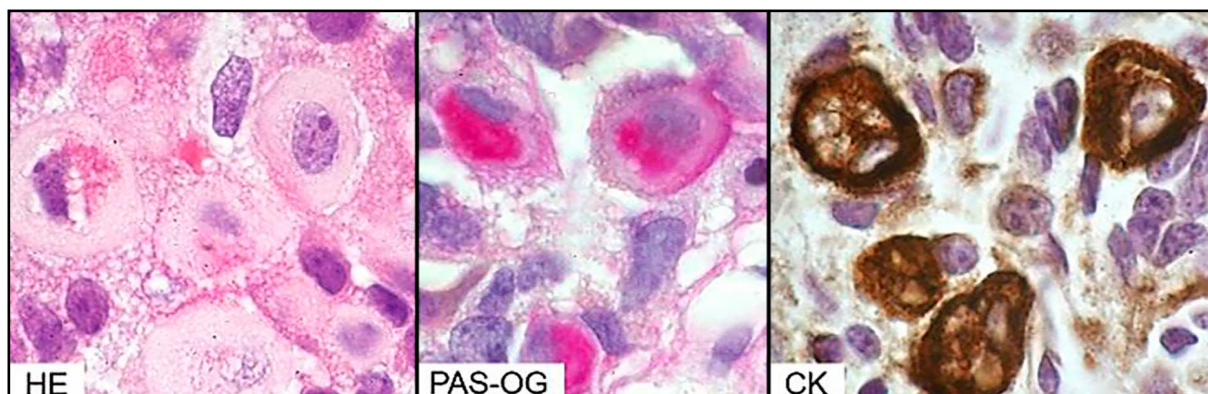


Fig. 6.21 Cambio hialino de Crooke (Larkins y Ansorge).

6.2.5 Adenomas de células de Crooke

Hay exceso de cortisol sistémico en corticotropos no neoplásicos. Suelen tener presentación silenciosa (fig. 6.22).

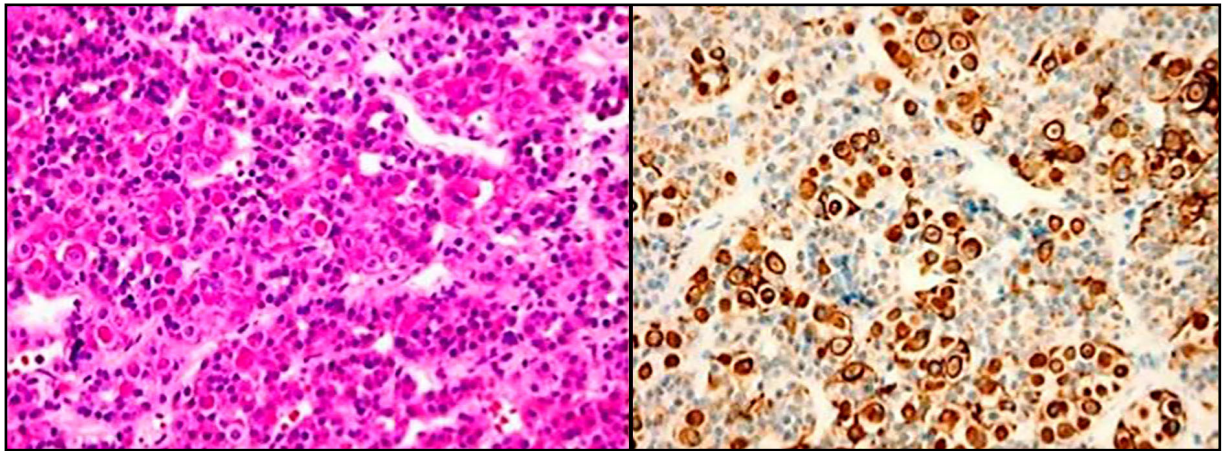


Fig. 6.22 Adenoma de Crooke (Larkins y Ansorge).

- **Corticotropinomas silenciosos:** inmunorreactividad para ACTH pero con ausencia de cualquier signo clínico de enfermedad de Cushing o niveles séricos que reflejen exceso de secreción de ACTH. Muestran una alta tendencia a la hemorragia y la apoplejía (1/3 de los pacientes).

6.2.6 Tirotropinomas

Secretores de TSH, son los AH menos frecuentes (1-5% de todos los adenomas). El diagnóstico puede ser problemático si la presentación clínica y la inmunorreactividad para TSH no son convincentes.

Histología: estos tumores raros contienen células fusiformes entrelazadas (fig. 6.23).

IHQ: expresión de TSH fuerte y desigual.

En muchos casos la microscopía electrónica es obligatoria para un diagnóstico adecuado.

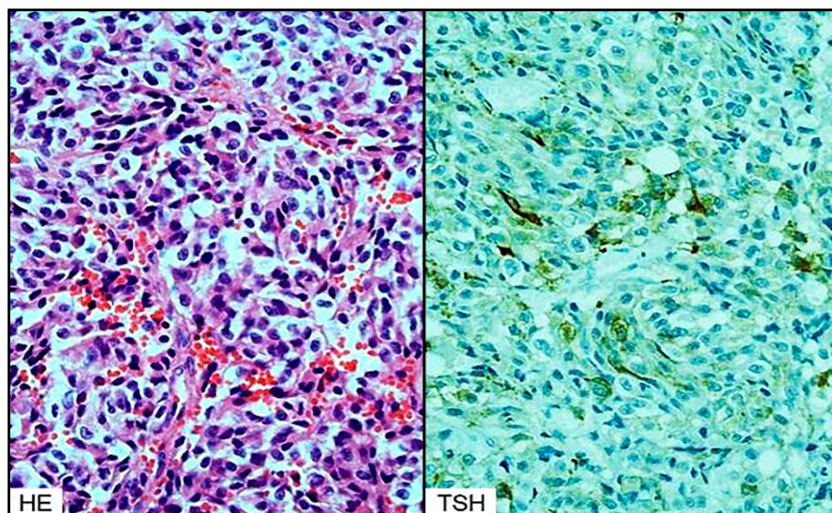


Fig. 6.23 Tirotropinoma (Larkins y Ansorge).

6.2.7 Gonadotropinomas

Son secretores de gonadotropinas (FSH y LH) y constituyen alrededor del 10-15% de todos los AH. Son adenomas que generalmente no causan un síndrome clínico relacionado con la sobreproducción hormonal y clínicamente pasan por ser adenomas no funcionantes.

Histología: células tumorales dispuestas en un patrón deseudorrosetas perivasculares de células neuroendocrinas.

IHQ: expresión parcheada y focal de gonadotropinas. Se usan anticuerpos monoclonales específicos contra β -FSH (la más frecuente), β -LH y alfa-subunidad (α -SU) (figs. 6.24-6.25). **Ultraestructura:** de interés científico, pero no altera el manejo clínico de estos pacientes.

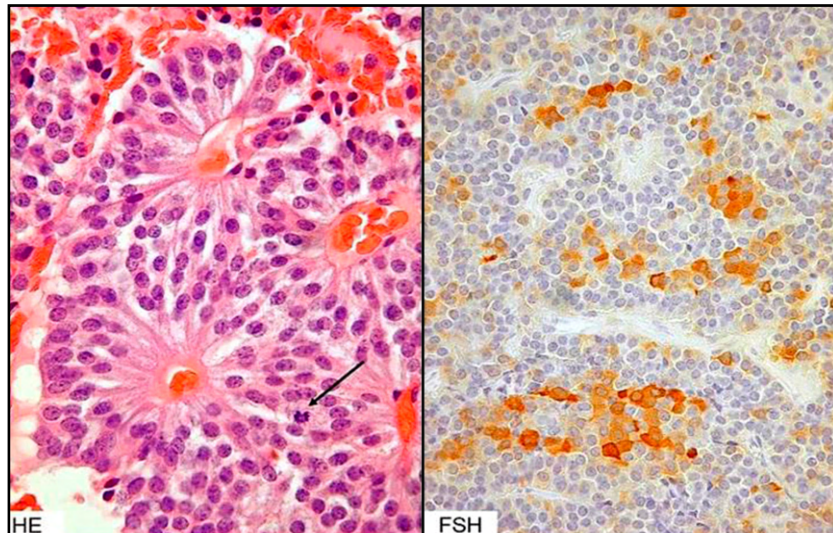


Fig. 6.24 Gonadotropinoma: FSH+ (Larkins y Ansorge).

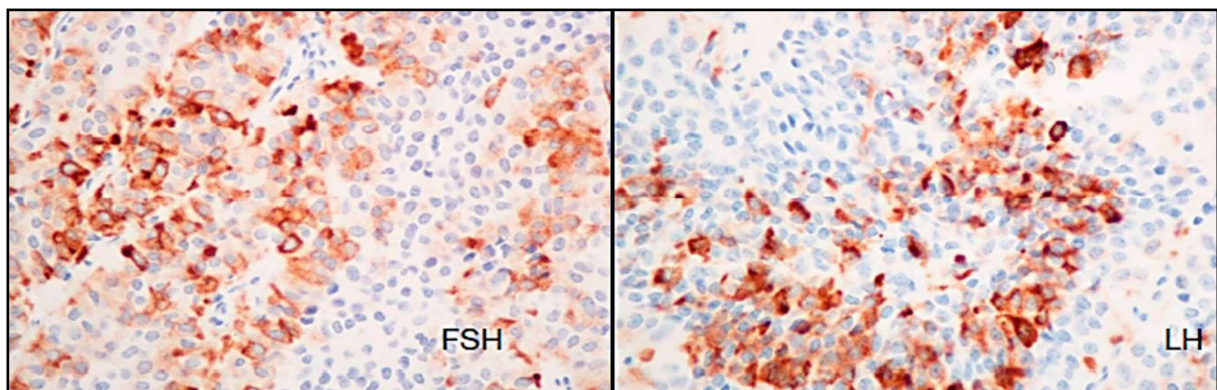


Fig. 6.25 Gonadotropinoma: FSH+ y LH+ (Aranda).

6.2.8 Adenomas plurihormonales

IHQ: positivos para múltiples hormonas hipofisarias.

6.2.9 Adenomas de células nulas

Un 20% no muestra evidencia clínica ni IHQ de producción hormonal. Histología: algunos casos pueden mostrar cambios oncocíticos.

6.2.10 Adenomas atípicos

La OMS (2004): tienen índice mitótico elevado, índice de proliferación celular (Ki-67) superior a 3% y proteína p53+ (fig. 6.26).

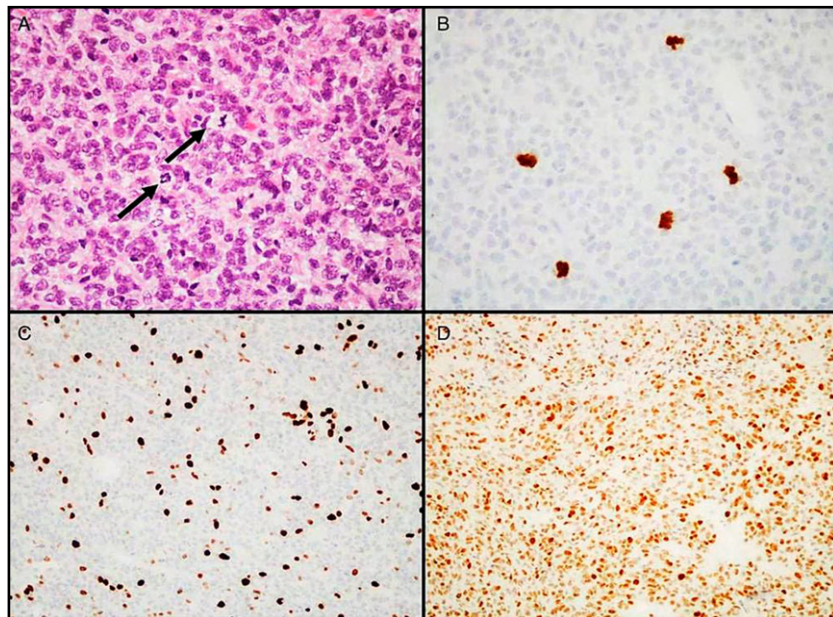


Fig. 6.26 Adenomas atípicos. A. Flechas: mitosis. B: Ac PHH3 para mitosis. C. Proliferación: Ki67. D. Reactividad nuclear: p53 (Elsevier).

6.3 Carcinomas hipofisarios

Muy raros (< 1%). Son macroadenomas con pleomorfismo marcado, figuras mitóticas frecuentes y reactividad nuclear a p53 (fig. 6.27).

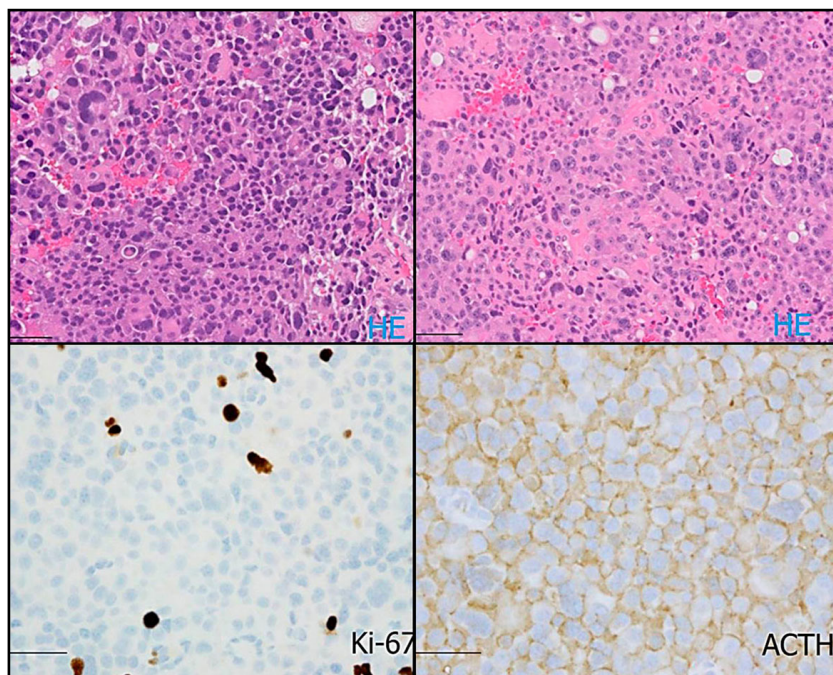


Fig. 6.27 Carcinomas hipofisarios. Pleomorfismo nuclear, mitosis, Ki-67+, ACTH+ (Larkins y Ansorge).

6.4 Oncocitomas fusocelulares

Tienen características clínicas y neuroimágenes inespecíficas. Clínicamente son indistinguibles de los adenomas no funcionantes, y los pacientes pueden presentar signos y síntomas de hipopituitarismo y alteraciones visuales.

Histología: proliferación de células fusiformes eosinófilas en patrón arremolinado.

IHQ: carecen de inmunorreactividad para marcadores neuroendocrinos y hormonas hipofisarias. Las células tumorales: vimentina+, bcl-2+, S-100+, TT-F+, galectina-3+ y expresan focos de proteína gliofibrilar ácida (GFAP). Índice Ki67: bajo (**fig. 6.28**).

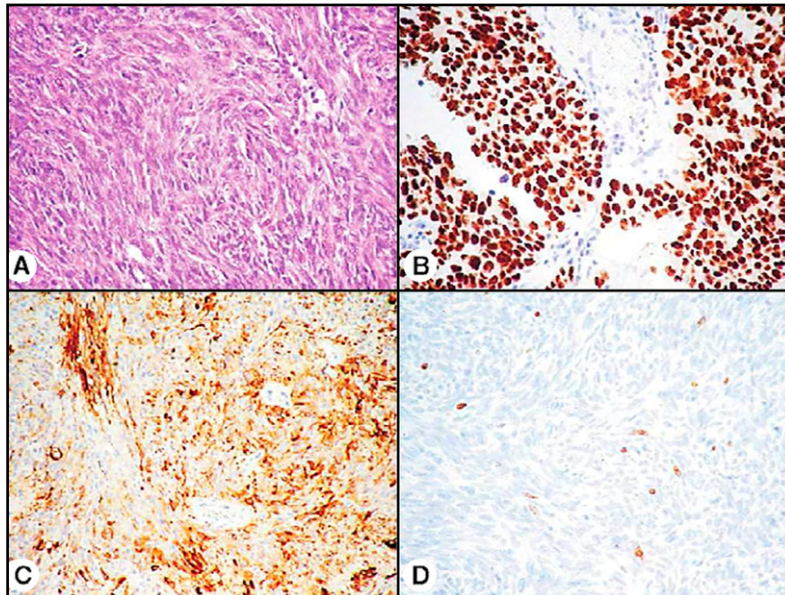


Fig. 6.28 Oncocitoma fusocelular. H-E, TTF-1+, S100+, Ki-67 (Sosa S y col.).

6.5 Quistes de la bolsa de Rathke

Revestido por un epitelio ciliado que es citoqueratina positivo, con vacuolas PAS positivas. A menudo sufre metaplasia escamosa (**fig. 6.29**).

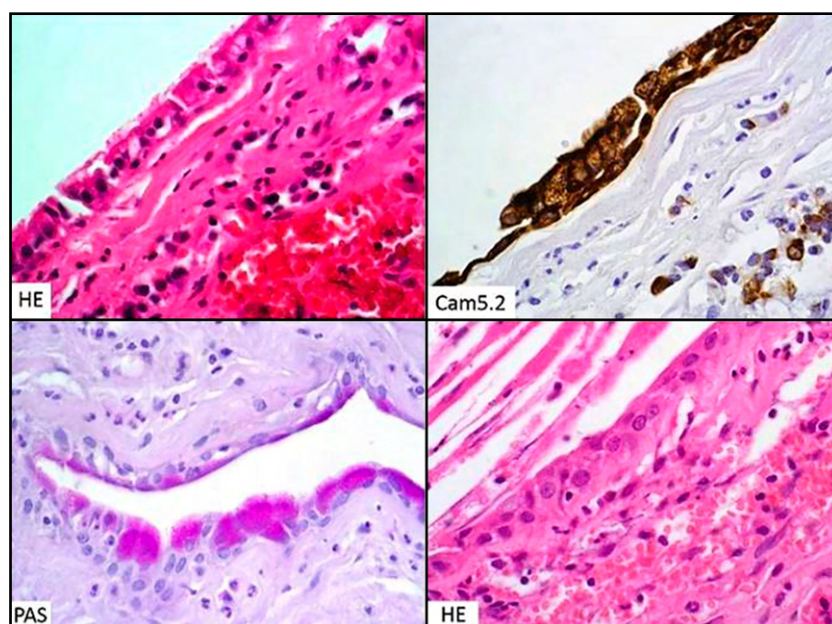


Fig. 6.29 Quiste de la bolsa de Rathke: H-E: revestido por epitelio ciliado Cam5.2+, vacuolas PAS+, HE: metaplasia escamosa (Larkins y Ansorge).

6.6 Craneofaringiomas

Presentan un estroma reticular estrellado y un epitelio periférico en empalizada con nódulos de células fantasma (queratinocitos en degeneración). Las protuberancias en forma de dedos del epitelio neoplásico el parénquima cerebral hipotalámico induce una gliosis de fibra de Rosenthal hipereosinofílica (**fig. 6.30**).

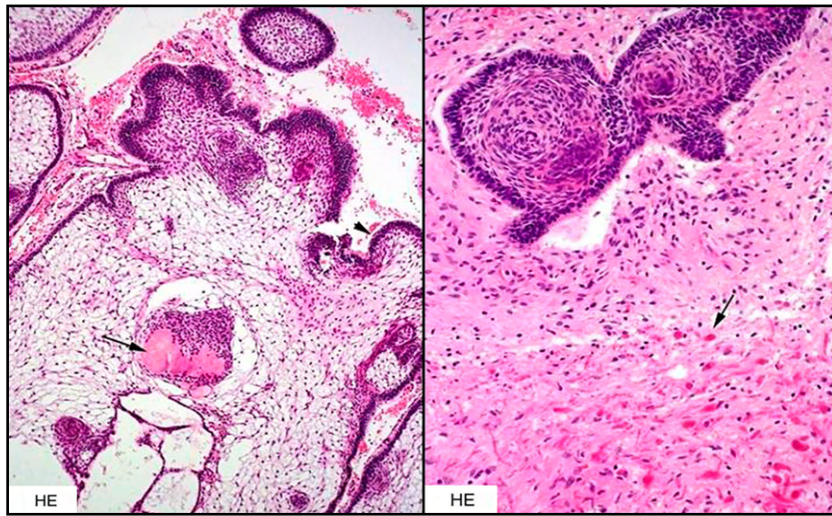


Fig. 6.30. Craneofaringioma. HE: estroma reticular estrellado, epitelio periférico en empalizada con nódulos de células fantasma (queratinocitos en degeneración). (Larkins y Ansorge).

E. Tumores de la neurohipófisis

6.7 Pituicitomas

Tumores raros de bajo grado de malignidad y conducta clínica poco caracterizada. Presentan células piloides alargadas en fascículos. **IHQ:** vimentina+, **S-100+**, **bcl-2+**, **TTF-1+** y proteína ácida fibrilar glial (**GFAP+**) (**fig. 6.31 derecha**).

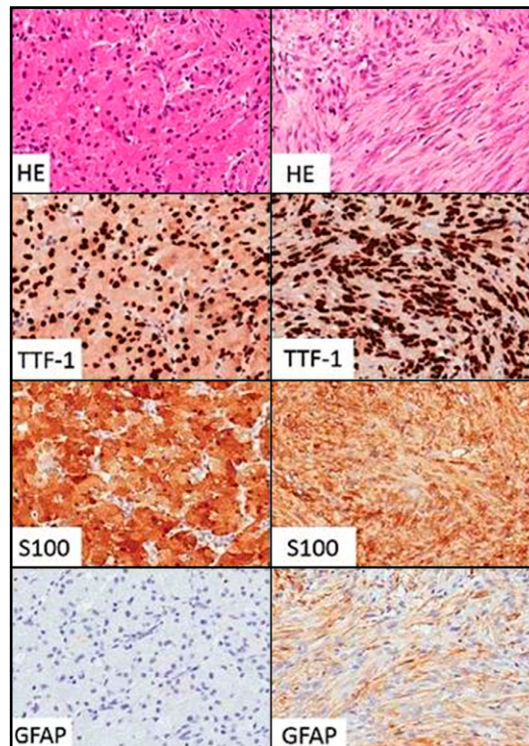


Fig. 6.31 Tumor de células granulares (izq.). Pituicitoma (der): TTF-1+ y S100+. Pituicitoma: GFAP+ (Larkins y Ansorge).

6.8 Tumores de células granulares

Son de crecimiento lento, algunos más agresivos. **Histología:** células poligonales grandes con abundante citoplasma granular (PAS+ con diastasa), núcleo redondo con cromatina delicada. **IHQ:** TTF-1+ (fig. 6.31 izquierda).

6.9 Cordomas selares

Son restos de la notocorda. Se ven células pleomórficas con vacuolas grandes y mucina PAS+ intracelular, flotando en una matriz azul alcian positiva (fig. 6.32).

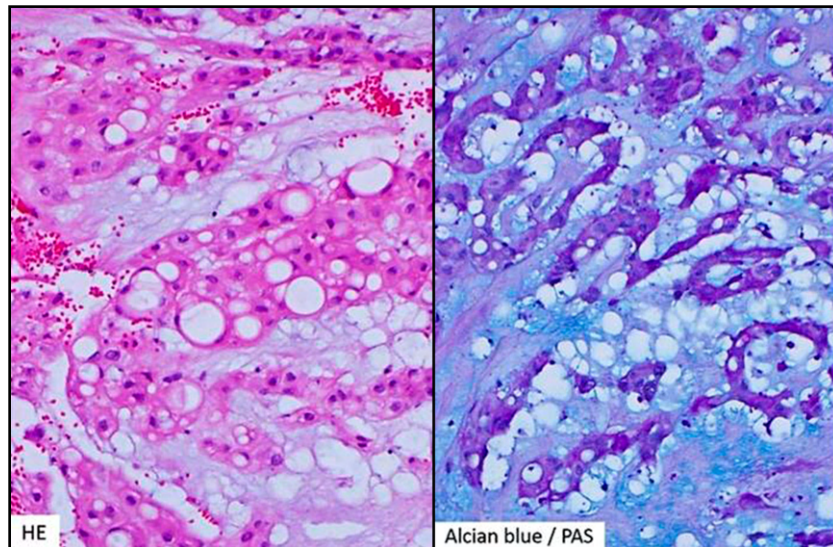


Fig. 6.32 Cordoma selar. Células pleomórficas con vacuolas mucina PAS+ intracelular que flotan en una matriz azul alcian+ (Larkins y Ansorge).

Referencias

- Aranda FI et al. Oncocitoma fusocelular hipofisario. *Rev Esp Patol* 46:206-211, 2013
- Asa SL and Mete O. A history of pituitary pathology. *Endocr Pathol* 25(1):6-11, 2014.
- Asa SL et al. Gonadotropin producing adenoma. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs*, pp. 30-32.
- Asa SL, Ezzat S. Aggressive pituitary tumors or localized pituitary carcinomas: defining pituitary tumors. *Exp Rev Endocrinol Metab* 11: 149-162, 2016.
- Brat DJ et al. Pituitary. *WHO Classification of tumours of the central nervous system*, pp. 332-333
- Buslei R et al. Craniopharyngioma. *WHO Classification of tumours of the central nervous system*, pp. 324-328.
- Carpinteri R et al. Pituitary tumours: inflammatory and granulomatous expansive lesions of the pituitary. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:639-650, 2009.
- Cheung CC et al. The spectrum and significance of primary hypophysitis. *J Clin Endocrinol Metab* 8:1048-1053, 2001.
- Chinezu L et al. Silent GH pituitary tumor: diagnostic and therapeutic challenges. *Ann Endocrinol (Paris)* 74(5-6):491-495, 2013.
- Cónsole GM et al. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 95(3):157-166, 1997c.
- Cónsole GM. The pituitary gland: normal and pathologic morphology. *EDULP y Red de Universidades Nacionales (REUN)*. EDULP, 2017.
- Cooper O, Melmed S. Subclinical hyperfunctioning pituitary adenomas: the silent tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26(4):447-460, 2012.
- Falorni A et al. Diagnóstico y clasificación de la hipofisitis autoinmune. *Revisiones de autoinmunidad* 13:412-416, 2014.
- Felix IA et al. Mammosomatotroph adenoma of the pituitary associated with gigantism and hyperprolactinemia. A morphological study including immunoelectron microscopy. *Acta Neuropathol* 71:76-82, 1986.
- Green AI et al. Extensive experience in the management of macroprolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 81(1):85-92, 2014.
- Greenman Y, Stern N. Non-functioning pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23: 625-638, 2009.
- Horvath E et al. Plurihormonal adenoma. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs*, pp. 35.
- Horvath E, Kovacs K, et al. Acidophil stem cell adenoma of the human pituitary: clinicopathologic analysis of 15 cases. *Cancer* 47:761-771, 1981.
- Horvath E, Kovacs K. Pathology of growth hormone-producing tumors of the human pituitary. *Semin Diagn Pathol* 3(1):18-33, 1986.
- Hunn BH et al. Hipofisitis granulomatosa idiopática: revisión sistemática de 82 casos en la literatura. *Pituitaria* 2014; 17: 357-365, 2014.
- Jarzebowski J et al. Type IV collagen immunostaining is a simple, reliable diagnostic tool for distinguishing between adenomatous and normal pituitary glands. *Arch Pathol Lab Med* 131(6):931-935, 2007.
- Jiang X, Zhang X. The molecular pathogenesis of pituitary adenomas: an update. *Endocrinol Metabol (Seoul)* 28(4):245-254, 2013.
- Klibanski A. Clinical practice. Prolactinomas. *N Engl J Med* 62: 1219-1226, 2010.
- Kloub o et al. Spindle cell oncocytoma of the adenohypophysis: report of two recurrent cases. *Am J Surg Pathol* 29:247-253, 2005.
- Kolesnikova GS et al. Comparative analysis of clinical, hormonal and morphological studies in patients with neuroendocrine ACTH-producing tumours. *Int J Endocrinol* 659232, 2013.

- Kovacs K and Horvath E. Tumors of the pituitary gland. Atlas of Tumor Pathology. Fascicle 21. In: Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology 1-269, 1986.
- Kovacs K et al. Adenoma of the human pituitary producing growth hormone and thyrotropin. A histologic, immunocytologic, and fine-structural study. *Virchows Arch A* 395(1):59-68, 1982.
- Kovacs K et al. Silent somatotroph adenomas of the human pituitary. A morphologic study of three cases including immunocytochemistry, electron microscopy, in vitro examination, and in situ hybridization. *Am J Pathol* 134(2):345-353, 1989.
- Lapshina AM, Voronkova IA, Marova IE. Histological and immunohistochemical characteristics of ACTH-secreting tumors. *Arkh Patol* 75(3):8-13, 2013.
- Lloyd RV. Surgical pathology of pituitary gland. Vol 27. Major problems in Pathology. In: Sanders Company, 1993.
- Lopes MB et al. Granular cell tumour. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs, pp. 44-45.
- Lopes MB et al. Pituitary carcinoma, diagnosis and treatment. *Endocrine* 28: 115-121, 2005.
- Lopes MB et al. Spindle cell oncocytoma. WHO Classification of tumours of the central nervous system, pp. 334-336.
- Luk CT et al. Plurihormonal pituitary adenoma immunoreactive for thyroid-stimulating, growth hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin. *Endocr Pract* 18(5): e121-126, 2012.
- Maartens NF et al. Clinicopathological features and outcome in patients with mammosomatotroph adenomas. *Endocrinol Pathol* 12:226, 2001.
- Mete O et al. Spindle cell oncocytomas and granular cell tumors of the pituitary are variants of pituicytoma. *Am J Surg Pathol* 37:1694-1699, 2013.
- Miermeister CP et al. Histological criteria for atypical pituitary adenomas - data from the German pituitary adenoma registry suggests modifications. *Acta Neuropathol Commun* 3: 50, 2015.
- Obari A et al. Clinicopathological features of growth hormone-producing pituitary adenomas: difference among various types defined by cytokeratin distribution pattern including a transitional form. *Endocr Pathol* 19:82-91, 2008.
- Osamura RY et al. TSH producing adenoma. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs, pp. 24-25.
- Porter TE et al. Evidence for bidirectional interconversion of mammotropes and somatotropes: rapid reversion of acidophilic cell types to pregestational proportions after weaning. *Endocrinology* 129(3):1215-20, 1991.
- Ragel BT, Couldwell WT. Pituitary carcinoma: a review of the literature. *Neurosurg Focus* 16: E7, 2004.
- Raverot G et al. Management of endocrine disease: clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol* 170(4):R121-132, 2014.
- Raverot G et al. Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumours: merits and pitfalls of temozolomide treatment. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 76(6):769-775, 2012.
- Sano T et al. Null cell adenoma. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs, pp. 33-34.
- Scangas GA, Laws ER. Pituitary incidentalomas. *Pituitary* 17(5):486-491, 2014.
- Scheithauer BW et al. Pituitary carcinoma. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs, pp. 36-39.
- Sternberg SS. *Histology for Pathologists*. Ed. Raven Press.
- Zada G et al. Adenomas hipofisarios atípicos: incidencia, características clínicas e implicaciones. *Revista de Neurocirugía* 114:336-344, 2011.

7.1 Cromosomas y genes.

El ADN es la base de la expresión de la información genética. En la **fig. 7.1** se señala: **célula** → **núcleo** → **cromosomas** → **genes** → **hebra de ADN** formada por una **base nitrogenada** y un **fosfato**. Existen cuatro tipos de bases nitrogenadas en el ADN: **adenina (A)**, **guanina (G)**, **timina (T)** y **citocina (C)**.

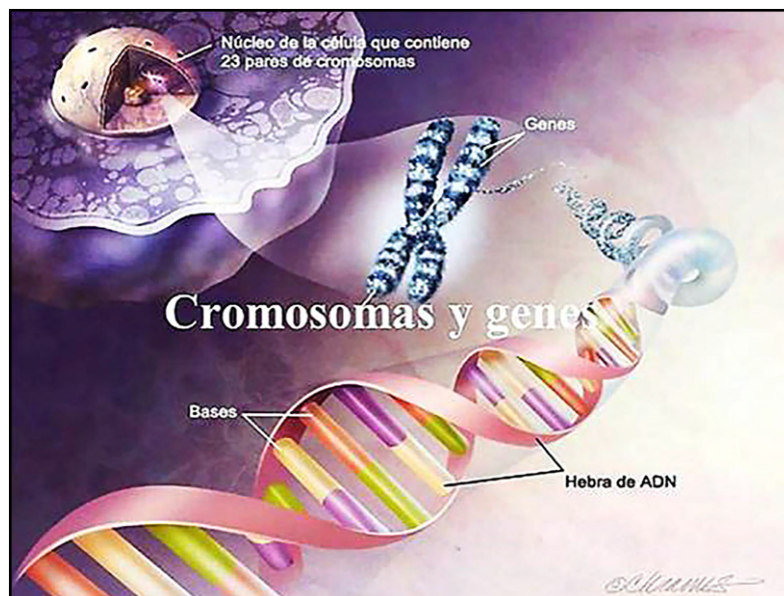


Fig. 7.1 Estructura de: núcleo, cromosomas, genes, ADN (slideplayer).

La información está codificada dentro de los **cromosomas**. Las regiones del cromosoma que definen proteínas se denominan **genes** y se hallan en *sitios específicos de los cromosomas*. La información codificada del **ADN** es copiada a un **ARN** en un proceso de **transcripción** y es transportada fuera del núcleo hacia los **ribosomas**, donde *se decodifica* para generar una *secuencia específica de aminoácidos*, en un procedimiento denominado **traducción**. El orden es: célula: ADN nuclear (replicación): **cromosomas, genes** → **transcripción**: **ribosomas** (citoplasma): **ARN** (replicación) → **traducción** → **proteína**.

El **gen** es una unidad heredable o **genotipo** que puede mutar y ocasionar cambios en los rasgos o **fenotipo**. Se lo ubica en un lugar o *locus* dentro del cromosoma. El **gen** es un segmento de ADN que contiene una *unidad de transcripción* y sus *secuencias reguladoras (promotor)* que pueden ser *traducidas* en una *secuencia polipeptídica*.

Cada gen comprende *exones traducibles e intrones no traducibles*, una *región anterior* no traducible (SANT), una *región posterior* (SPNT), una *región promotora* cercana e *intensificadores o silenciadores* más lejanos. Las *mutaciones* son cambios permanentes de la información contenida en el ADN que se producen por errores en el proceso de replicación, que se acelera por radiaciones ionizantes o diversos químicos.

El genoma de *Homo sapiens* comprende la secuencia de ADN contenida en 23 pares de cromosomas (moléculas lineales de ADN) en el núcleo de cada célula humana diploide: 22 autosomas y un par determinante del sexo (XX: mujeres y XY en varones).

El **código genético** es la convención por la cual una señal informativa se transforma en otra señal y consiste en *tripletes de bases* de ácido nucleico que contienen la información necesaria para la ubicación de un aminoácido en una molécula de proteína. Un **codón** es un triplete de *ARN mensajero (ARNm)* que es reconocido por un **anticodón** de *ARN de transferencia (ARNt)*. Los genes humanos pueden estar en la cadena *positiva* (sentido 3' a 5' desde el extremo del brazo corto del cromosoma) o en la *negativa* (sentido 5' a 3' desde el extremo del brazo largo del cromosoma).

El **análisis de los cromosomas y sus genes** ha influido en el diagnóstico y el tratamiento clínico de los pacientes con endocrinopatías (**fig. 7.2**).



Fig. 7.2 Cromosomas y genes (MasScience).

El *genoma nuclear* contiene 99% del ADN celular, con 3.000 Megabases (Mb) que se reparten entre 46 *cromosomas* (44 autosomas y 2 cromosomas sexuales: X-Y). El número de *genes* que contiene el genoma nuclear humano se estima en un rango de 30.000 a 150.000. Los *genes* presentan *dos cadenas (doble hélice) de ADN* compuestas por *nucleótidos*: fosfato, desoxirribosa, bases nitrogenadas: *adenina* (A), *guanina* (G), *citocina* (C), *timina* (T). Los humanos somos idénticos en un 99.8%. El ADN se halla empaquetado formando una compleja estructura dinámica nucleoproteica denominada *cromatina*, cuyo estado de condensación tiene gran variación a lo largo del ciclo celular. Las *histonas* (H1, H2A, H2B, H3, y H4), son los principales componentes proteicos de la cromatina. En la estructura de un cromosoma se evidencian distintos niveles de compactación de un cromosoma humano sobre la base del superenrollamiento del eje del ADN alrededor de *octámeros de histonas*. Estas unidades estructurales o *nucleosomas* forman un primer nivel de estructura en forma de collar de cuentas, que a su vez se enrolla sobre un nuevo eje imaginario formando las *fibras*. Los pliegues de estas fibras introducen sucesivos grados de compactación de un cromosoma hasta un valor máximo alcanzado en la etapa de la metafase. Si el ADN del cromosoma humano 1 (247 x 106 pb) no se encontrara compactado, mediría 8,5 cm, longitud que supera decenas de miles de veces las dimensiones de una célula. Las modificaciones de la cromatina funcionan interrumpiendo los contactos o afectando el reclutamiento de proteínas. En las **histonas** pueden

dictar la estructura de la cromatina en la que se empaqueta el ADN y puede orquestar el reclutamiento ordenado de complejos enzimáticos para manipular el ADN. Las modificaciones de las histonas tienen el potencial de influir en muchos procesos biológicos fundamentales (Kouzarides, 2007).

Las histonas octaméricas globulares son proteínas que rodean al ADN y gobiernan la expresión de los genes, pues sus colas proteicas catalizan una gran variedad de adiciones químicas y pueden sufrir acetilación, metilación, fosforilación, poli-ADP, ribosilación, ubiquitinación y glucosilación. (fig. 7.3).

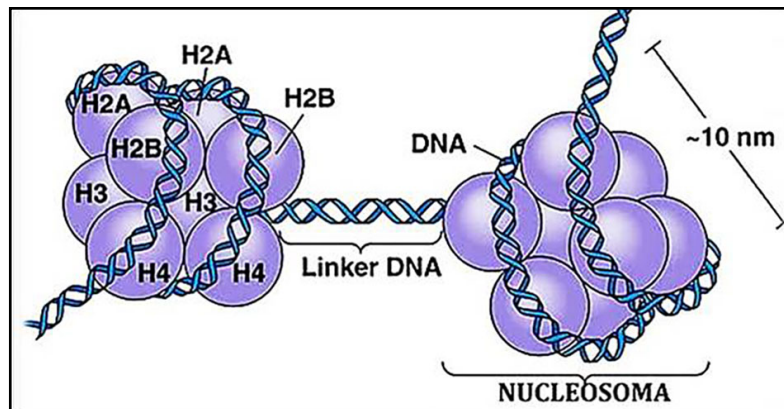


Fig. 7.3 Histonas octaméricas (googlesites).

Las **alteraciones congénitas** pueden ser: *morfológicas* (malformaciones), *funcionales* (hipoacusia, ceguera, metabolopatías), *aisladas*, *múltiples* (síndromes, asociaciones, secuencias).

7.2 Etiología de las enfermedades genéticas

- A. *Monogénicas o mendelianas* (5-8%).
- B. *Cromosómicas* (10%).
- C. *Ambientales* (teratogénicas) (7%).
- D. *Multifactoriales* (genes + ambiente) (25%).
- E. *Desconocidas* (50%).

A. Enfermedades mendelianas o monogénicas

Se producen por la mutación de un único gen. Se dividen en autosómicas ligadas al sexo, dependiendo de que la mutación esté presente en un autosoma o en uno de los cromosomas sexuales respectivamente. A su vez, ambas pueden ser dominantes o recesivas.

a. Autosómica dominante (AD): la mutación está presente en un autosoma y sólo es necesario que uno de los alelos del individuo esté mutado (heterocigota) para que se manifieste la enfermedad. La penetrancia habla de la presencia de la mutación en el heterocigota y su manifestación clínica, en cuyo caso hablamos de penetrancia completa.

La acondroplasia es un ejemplo de penetrancia completa, lo cual implica que ante la presencia de la mutación manifestarán la enfermedad. Sin embargo, en algunos heterocigotas la presencia de la mutación no puede ser detectada desde el punto de vista clínico; esto habla de una penetración incompleta y se observa en el árbol genealógico como salto generacional.

No debe confundirse con la *expresividad variable* que implica variaciones en la manifestación clínica de una enfermedad, de ahí la insistencia de un examen físico minucioso en busca de signos leves. La *neurofibromatosis tipo 1* constituye el clásico ejemplo de expresividad variable ya que un progenitor afectado puede manifestar el cuadro completo de la enfermedad con los neurofibromas, nódulos de Lisch en el iris, pseudoartrosis, convulsiones y el paciente sólo presenta manchas café con leche. Sin embargo,

puede aparecer una mutación AD en un individuo sin antecedentes en generaciones precedentes. A esta aparición de una enfermedad que surge como consecuencia de un error en la transmisión de un gen se la conoce como *mutación de novo*. Un ejemplo: la **acndroplasia** que se manifiesta de pronto en una familia de talla normal. En ciertos casos ha sido asociado a edad paterna avanzada.

b. Autosómica recesiva (AR): la mutación génica está presente en un autosoma, y es necesario que sea homocigota, para que la enfermedad se manifieste. La condición de heterocigota no es suficiente y sólo lo hace portador de la enfermedad. Dada la necesidad de recibir ambos alelos mutados, el materno y el paterno, la presencia de consanguinidad aumenta el riesgo de padecer una enfermedad AR. Los genes ubicados en el cromosoma Y se refieren como ligados al Y o herencia holándrica e implica que sólo los varones pueden padecerla. Los varones afectados se lo transmiten a sus hijos varones y a ninguna hija.

c. Ligada al cromosoma X: en la enfermedad ligada al X dominante, la mutación se ubica en un cromosoma X. A diferencia de la AD, hay predominancia de mujeres afectadas por ser el X el portador de la mutación y no hay transmisión varón-varón porque el varón afectado sólo les transmite a sus hijos varones el cromosoma Y. Por tener el hombre un solo cromosoma X, el enfermo será hemicigota y no heterocigota, y transmitirá la mutación a todas sus hijas (**fig. 7.4**).

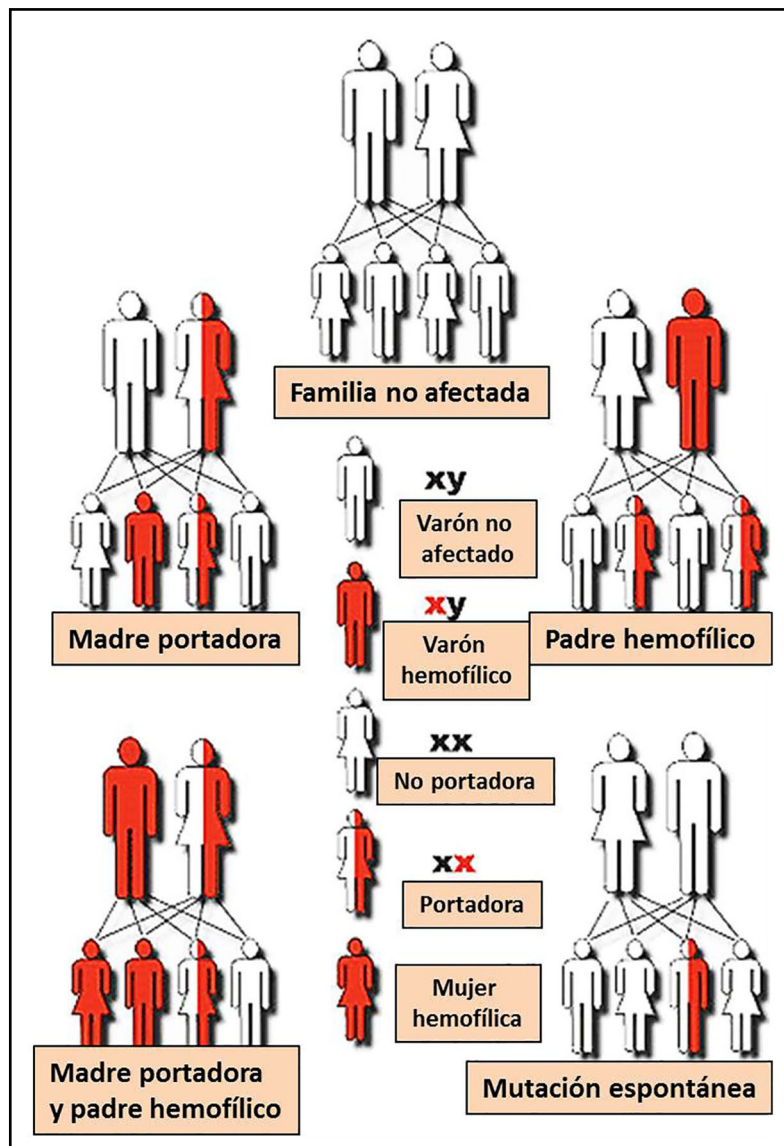


Fig. 7.4 Enfermedad por cromosoma X (ARGOS).

d. Herencia mitocondrial: hay un aporte desigual de genes mitocondriales al cigota que los recibe enteramente de su madre. Las mitocondrias del cigota proceden del óvulo, por lo que sólo las mujeres transmiten las lesiones en el ADN mitocondrial, pudiendo padecer las enfermedades derivadas de ellas ambos sexos por igual.

En la **herencia mitocondrial** hay un aporte desigual de genes mitocondriales al cigota que los recibe enteramente de su madre. Las mitocondrias del cigota proceden del óvulo, por lo que sólo las mujeres transmiten las lesiones en el ADN mitocondrial, pudiendo padecer las enfermedades derivadas de ellas ambos sexos por igual. El ADN mitocondrial tiene 16.569 nucleótidos en una molécula circular. Codifica para unos 13 polipéptidos de la vía generadora de ATP de la mitocondria para la fosforilación oxidativa y están implicados en la cadena de transporte electrónico de la respiración aerobia, junto con ARN ribosómico (rARN) 12S y 16S y 22 ARN de transferencia (tARN). Existe heterogeneidad de genomas mitocondriales en un mismo organismo, condición conocida como *heteroplasmia*. Ejemplos: neuropatía óptica hereditaria de Leber, oftalmoplejía externa crónica progresiva y miopatía mitocondrial con fibras rojas estriadas.

B. Enfermedades cromosómicas

Se producen por *alteraciones en el número o en la estructura de los cromosomas*. Por ser organismos diploides ($2n = 46$) tenemos un juego cromosómico haploide de 23 cromosomas ($n = 23$) proveniente de la madre y otro del padre. El set haploide presente en el óvulo y el espermatozoide se producen a partir de la meiosis femenina y masculina cuya primera división tiene la misión de reducir el número cromosómico de ovo y espermatozonias ($2n$) a la mitad. De esta manera, luego de la fecundación se forma la cigota con 46 cromosomas.

Los cromosomas pueden ser definidos como estructuras nucleares que se hacen visibles al microscopio óptico durante la división celular. Están formados por ADN y proteínas de tipo histónico y no histónico que sufren diversos procesos de compactación durante la fase M del ciclo celular, logrando que de una hebra de ADN de 2 nm de espesor se obtenga una estructura cromosómica metafásica de 1400 nm (700 nm cada cromátide hermana). Los cromosomas se clasifican en *metacéntrico*, *submetacéntrico*, *acrocentrico* y *telocéntrico* de acuerdo a la posición del centrómero.

- Alteraciones cromosómicas numéricas

a. Poliploidías: el número cromosómico es múltiplo del set haploide (n), es decir $3n$ (*triploidía*, 69 cromosomas), $4n$ (*tetraploidía*, 92 cromosomas). Son incompatibles con la vida en línea pura y sólo sobreviven con graves dismorfias en forma de mosaico, entendido como la coexistencia en un mismo individuo de más de una línea celular.

b. Aneuploidías: son modificaciones del número diploide, $2n+1$ o bien $2n-1$, lo cual implica una trisomía del cromosoma que se adiciona (por ejemplo, trisomía 21) o la monosomía del cromosoma que falta (por ejemplo, monosomía X).

- **Alteraciones cromosómicas estructurales:** deleción, translocación, inversión, inserción, duplicación, isocromosoma de brazos cortos o largos, cromosoma en anillo.

c. Enfermedades multifactoriales: son responsables del mayor grupo de las enfermedades genéticas. En este tipo de enfermedad el *factor genético* y el *ambiental* están involucrados. Se dice que la constitución genética produce la *predisposición* a padecer determinada enfermedad y que el factor ambiental actuaría como *desencadenante*. Esta susceptibilidad estaría determinada por el efecto aditivo de muchos genes (poligenes). Numerosas características normales están gobernadas por este tipo de herencia: presión arterial, altura, inteligencia, etc. Ejemplos: defectos de cierre del tubo neural, la hendidura palatina, la espina bífida, la estenosis pilórica congénita y algunas de las enfermedades crónicas más frecuentes: hipertensión arterial, Alzheimer, esquizofrenia, diabetes mellitus, etc. Hay recurrencia familiar porque existe la carga genética. Tendrá mayor riesgo si los afectados son sus hermanos que si es su primo.

- *Imprinting genómico:* expresión de los genes de cromosomas homólogos que puede resultar en características clínicas diferentes dependiendo de si el gen se ha heredado de la madre o el padre. Son algunos ejemplos el síndrome de Prader-Willi y el síndrome de Angelman.

- *Mosaicismo germinal*: implica la presencia a nivel gonadal o de línea germinal de mutaciones AD o ligadas al X que se encuentran en un porcentaje de las células gonadales. A pesar de ser los padres sanos, tienen más de un hijo afectado.

- *Disomía uniparental*: es la presencia en un individuo de un par cromosómico proveniente del mismo progenitor. Esto surge como resultado de correcciones en el cigota que recibe un cromosoma del padre y dos de la madre por no disyunción en la meiosis I femenina y como mecanismo de compensación elimina un cromosoma al azar, en este caso el paterno, quedando los dos cromosomas maternos.

7.3 Genética del hipopituitarismo congénito (fig. 7.5)

Las mutaciones espontáneas y los modelos murinos transgénicos han permitido el estudio de numerosos factores de transcripción en la etiología del hipopituitarismo congénito: **HESX1**, **PROP1**, **PIT1**, **LHX-3**, **LHX-4**, **SOX-2**, **SOX-3**, **TX-2**, **PAX-6**, **FGFR1**, **SHH**, **GLI-2** y **FGF-8**. Las mutaciones genéticas en cualquiera de estos factores pueden provocar **hipopituitarismo congénito**, que se caracteriza por la deficiencia de una o más hormonas hipofisarias. El fenotipo puede ser muy variable, consistente en hipopituitarismo aislado o trastornos más complejos. El mismo fenotipo se puede atribuir a diferentes mutaciones genéticas, mientras que una determinada mutación genética puede inducir diferentes fenotipos (Xatzipsalti y col., 2019).

La deficiencia congénita de la hormona pituitaria es una condición incapacitante. Es parte de un espectro de trastornos que incluyen defectos del desarrollo de la línea media craneofacial que van desde la *holoprosencefalia* hasta la *displasia septoóptica* y la *deficiencia combinada o aislada de la hormona pituitaria*. Los primeros genes descubiertos en la enfermedad humana se basaron en modelos de ratones de enanismo debido a mutaciones en genes de factores de transcripción. Las tecnologías de secuenciación de ADN de alto rendimiento permitieron a los médicos e investigadores encontrar nuevas causas genéticas de hipopituitarismo. Los genes del factor de transcripción están a la vanguardia del análisis funcional de nuevas variantes. Las pruebas genéticas en el hipopituitarismo son de gran importancia para el individuo y su familia para predecir la composición del fenotipo, la progresión de la enfermedad y evitar complicaciones potencialmente mortales como la insuficiencia suprarrenal secundaria (Gergics, 2019).

La mayoría de los pacientes con mutaciones de los genes de GH y los factores de transcripción muestran hallazgos característicos de RM con síndrome de interrupción del tallo hipofisario. La sospecha clínica debe impulsar la evaluación de los niveles de cortisol, T4 libre, TSH y GH junto con la RM de las regiones hipotalámica e hipofisaria (Parks, 2018).

Las mutaciones en **MAGEL2** y **LICAM** se asocian con hipopituitarismo congénito y artrogriposis (contracturas articulares graves). El análisis de expresión embrionaria humana reveló transcripciones de **MAGEL2** en el hipotálamo en desarrollo y el diencéfalo ventral y en la bolsa de Rathke. **LICAM** se expresó en el hipotálamo en desarrollo, el diencéfalo ventral y el rombencéfalo, pero no en la bolsa de Rathke (Gregory y col., 2019).

Las mutaciones en genes implicados en el desarrollo hipofisario temprano pueden asociarse con fenotipos extrapituitarios, que pueden ser muy variables. Por ejemplo, las mutaciones dominantes y recesivas en **HESX1** pueden estar asociadas con *displasia septoóptica*, deficiencia combinada de hormona pituitaria (CPHD) y deficiencia aislada de GH. Se han descrito duplicaciones y expansiones de polialanina dentro del factor de transcripción **SOX3** en asociación con *hipoplasia infundibular*, *hipopituitarismo* y *retraso mental variable*, mientras que las mutaciones en **SOX2** se asocian con *hipopituitarismo variable asociado a dificultades de aprendizaje*, *atresia esofágica* y *anofthalmia*. Las mutaciones en el gen **LHX3** del dominio LIM están asociadas con un fenotipo recesivo caracterizado por deficiencias en GH, TSH, LH y FSH, con preservación de corticotropas, en asociación con un cuello corto y rígido con rotación limitada. Se ha descrito una sola mutación dentro del gen **LHX4** que se asocia con la deficiencia de GH, TSH y ACTH. La mutación se asocia con una hipófisis anterior hipoplásica, una hipófisis posterior no descendida y amígdalas cerebelosas puntiagudas. **PROP1** y **POU1F**: mutaciones recesivas en el factor de transcripción específico de la pituitaria

Prophet of Pit1, o **PROP1**, están asociadas con CPHD (deficiencia de GH, PRL y TSH, con deficiencia adicional de LH y FSH). A veces se observa una silla turca agrandada con apariencia sugestiva de un tumor hipofisario en asociación con mutaciones de **PROP1**. Las mutaciones de **POU1F1** están asociadas con deficiencias de GH, TSH y PRL, siendo la deficiencia de TSH muy variable. La RM revela una hipófisis anterior normal o hipoplásica. Las mutaciones pueden heredarse de forma dominante o recesiva. En el futuro, el análisis genético de las mutaciones tendrá un rol más importante que desempeñar en la comprensión de los mecanismos que conducen a fenotipos hipopituitarios (Kelberman y Dattani, 2007) (fig. 7.5).

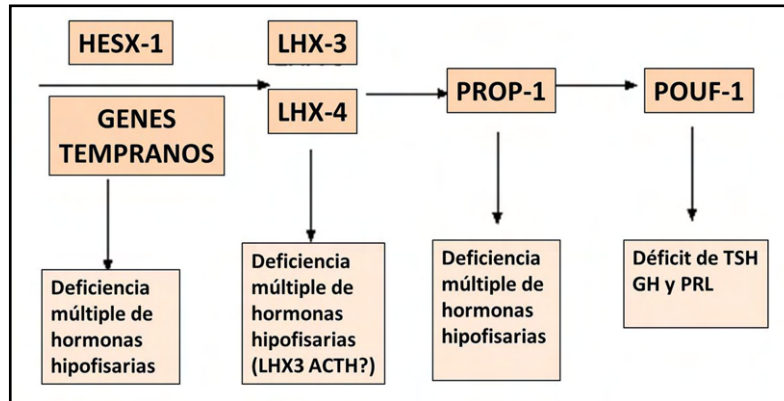


Fig. 7.5 Genética del desarrollo hipofisario (SciELO).

7.4 Genética de la acromegalia y el gigantismo

A. Acromegalia: deriva del griego “*akros*”, extremidades; “*meas*” grande. Algunos adenomas se relacionan con *expansión clonal* celular por mutaciones somáticas. Se detectó mutación en la proteína estimuladora **Gsa** en más de 40% de los **somatotropinomas**. El **gigantismo** y la **acromegalia** son trastornos raros causados por una secreción excesiva de **GH** y/o niveles altos de su mediador, **IGF-1**. La acromegalia suele ser esporádica, pero los casos familiares se presentan en asociación con varios síndromes de tumores hipofisarios familiares. Las mutaciones en la línea germinal del gen de la proteína que interactúa con el *receptor de hidrocarburos de arilo (AIP)* se asociaron con la predisposición al somatotropinoma familiar (Toledo y col., 2007).

En la **fig. 7.6** se muestra el **cromosoma 11** asociado a **acromegalia**.

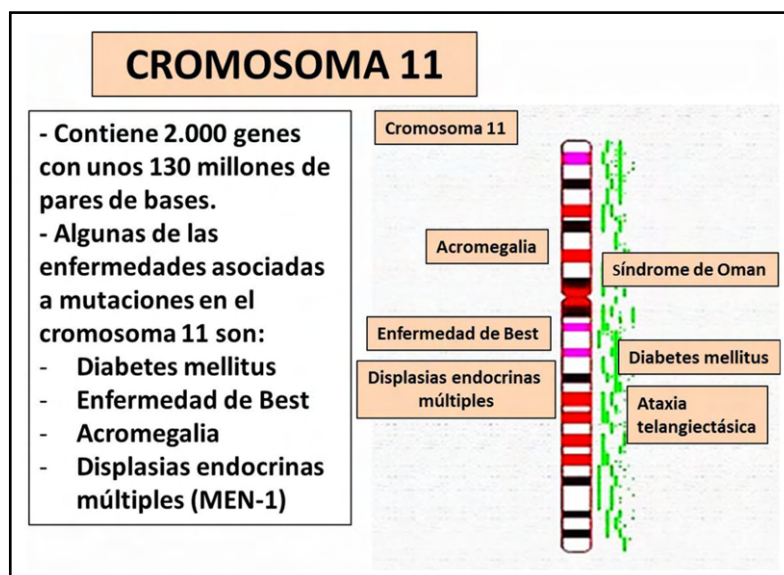


Fig. 7.6 Cromosoma 11 asociado a acromegalia (slideshare).

El *síndrome de McCune-Albright*, asociado con displasia ósea múltiple, pubertad precoz y en piel manchas café con leche, puede cursar con *acromegalia* por alguna mutación que activa la subunidad alfa de la proteína Gs. La **acromegalia** puede asociarse con hiperparatiroidismo, tumores neuroendocrinos con neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (**MEN 1**), y mutaciones de línea germinal para el gen *menina*.

B. Gigantismo: ocurre cuando el exceso de GH o IGF-1 conduce a un mayor crecimiento lineal, antes del final de la pubertad y del cierre epifisario. La mayoría de los casos surgen de un **somatotropinoma**, con una incidencia de gigantismo hipofisario y acromegalia de aproximadamente 8 y 11 por millón/año, respectivamente (Hannah-Shmouni F et al., 2016).

Las mutaciones en dos sitios críticos (mutaciones **Gsp**) inhiben la actividad de la GTPasa, que provoca activación de la **adenilciclasa**, produciéndose una secreción incontrolada de GH y una hiperplasia somatotropa. Patogénesis: hay pérdida del carácter heterocigoto de los cromosomas 11, 13 y 9 (macroadenomas invasores) y la activación del gen de transformación tumoral hipofisaria (**PTTG**), sobreexpresado en tumores hipofisarios funcionantes. La mutación de **Gsp** (gen de la subunidad de la proteína G) estimuladora es el defecto genético más frecuente asociado a somatotropinomas. Además, existen otros oncogenes implicados: **RAS** y **PTTG**.

La pérdida del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina **p27 (Kip1)** conduce a *crecimiento corporal, tumores hipofisarios e hiperplasia de órganos hematopoyéticos*. Los mosaicos genéticos revelan la función de **p27Kip1**. Los resultados indicaron que la supresión de los tumores pituitarios de la pars intermedia por **p27 (Kip1)** es *autónoma* de células y no contribuye al crecimiento excesivo o a fenotipos de infertilidad. Asimismo, **p27 (Kip1)** suprime la hiperplasia de timocitos a través de un mecanismo no autónomo celular. La interacción de la pérdida de **p27 (Kip1)** con la sobreexpresión de quinasa 4 dependiente de ciclina específica de células epiteliales identifica el epitelio tímico como un sitio relevante para la regulación del crecimiento del timo (Chien y col., 2006).

Los ratones que carecen de **p27 (Kip1)** se han creado mediante genes dirigidos a células madre embrionarias. Estos ratones son más grandes que los controles y algunos órganos: timo, hipófisis, suprarrenales y gónadas exhiben un notable agrandamiento. La actividad de **CDK2** se eleva 10 veces en los timocitos **p27 (-/-)**. El desarrollo de los folículos ováricos está alterado, lo que resulta en esterilidad femenina. Los ratones con la mutación **p27 (-/-)** desarrollan displasia de retina y *tumores hipofisarios*. Estos hallazgos indican que **p27 (Kip1)** actúa para regular el crecimiento de una variedad de células (Nakayama y col., 1996).

En la **fig. 7.7** se presentan las causas del gigantismo.

CAUSAS DE GIGANTISMO
<p>GENÉTICO: Familiar, redundancia de cromosomas sexuales. Síndrome de Marfan. Homocistinuria. Neurofibromatosis.</p>
<p>ENDOCRINO-METABÓLICAS: Somatotropinoma. Hiperinsulinismo. Diabetes lipoatrófica. Exceso de esteroides sexuales prepuberales.</p>
<p>INCLASIFICABLES: Gigantismo cerebral.</p>

Fig. 7.7 Causas de gigantismo (Melmed).

El **gigantismo hipofisario** es un subgrupo raro pero muy importante de pacientes con altura excesiva, ya que tiene una causa identificable y clínicamente tratable. La enfermedad es causada por la secreción crónica de **GH** e **IGF-1** en un somatotropinoma que se forma antes del cierre de las epífisis. Si no se controla de manera efectiva, esta hipersecreción hormonal podría llevar a una altura adulta final extremadamente elevada.

En los últimos años se han producido avances notables en la comprensión del gigantismo hipofisario, incluida la identificación de causas genéticas como mutaciones en el gen **AIP** o duplicaciones del cromosoma **Xq26.3** en el síndrome de acrogigantismo ligado al cromosoma X.

Los somatotropinomas secretores de GH pueden ser causados por anomalías genéticas en una variedad de genes, incluidos **AIP**, **MEN1**, **CDKN1B** y **PRKARIA**. Estos pueden conducir a adenomas aislados agresivos (**FIPA**) o como parte de afecciones sindrómicas como **MEN1** o **complejo de Carney**. Estos tumores tienen características más agresivas que la acromegalia esporádica, incluida una edad más temprana al inicio de la enfermedad y un tamaño tumoral más grande y su manejo puede ser difícil.

Se realizó un estudio internacional, multicéntrico y retrospectivo para caracterizar una serie de pacientes con **gigantismo hipofisario**. Se incluyeron 208 pacientes (163 hombres; 78,4%) con exceso de GH y una velocidad de crecimiento anormal actual/previa para la edad o talla final > 2 de por encima de la media normal del país. Se detectaron macroadenomas en el 84%, con extensión extraselar del 77% e invasión en el 54%. La altura final fue mayor en los pacientes de inicio más joven, con tumores más grandes y niveles más altos de GH. Las mutaciones de **AIP** ocurrieron en el 29%; la microduplicación en Xq26.3-acrogigantismo ligado al cromosoma X (**X-LAG**) ocurrió en dos parientes familiares de **FIPA** y en diez pacientes esporádicos. Los pacientes con mutación **AIP** y **X-LAG** eran significativamente más jóvenes al inicio y al diagnóstico, pero el control de la enfermedad fue peor en los casos genéticamente negativos. Los pacientes con gigantismo hipofisario se caracterizan por un predominio masculino y tumores grandes (Rostomyan y col., 2015).

C. Acrogigantismo: se describió en pacientes pediátricos el gen **X-LAG** (acrogigantismo ligado a X) por duplicación genómica Xq26.3, que aumenta la producción de GH. La duplicación de **GPR101** (gen que codifica para la proteína G) se encuentra sobreexpresada en pacientes con lesiones hipofisarias y se relaciona con *adrenoleucodistrofia* asociada al cromosoma X (**X-LAG**) en adultos con acromegalia.

Las mutaciones de **AIP** son raras en la acromegalia esporádica, pero se observan con mayor frecuencia entre determinadas poblaciones específicas de pacientes con adenoma hipofisario (casos de gigantismo hipofisario, familias de adenoma hipofisario aislado familiar (**FIPA**) y pacientes con macroadenomas diagnosticados ≤ 30 años). Las mutaciones de **AIP** son más frecuentes en pacientes con **gigantismo hipofisario** (29% de este grupo tenía mutaciones en dicho gen). Estos datos apoyan el cribado genético dirigido para mutaciones/deleciones de **AIP** en estos grupos de pacientes con adenoma hipofisario. El diagnóstico temprano de los casos de **acromegalia-gigantismo** relacionados con **AIP** permite la evaluación clínica y el tratamiento oportunos (Rostomyan y col., 2017).

Las mutaciones o deleciones, la variación del número de copias en el locus **GPR101** también pueden conducir a adenomas hipofisarios que secretan GH y PRL mixtos, en el contexto de **acrogigantismo** ligado al cromosoma X (síndrome **X-LAG**). En el síndrome **X-LAG** y en el síndrome de McCune Albright, el mosaicismo para las duplicaciones de **GPR101** y la activación de las mutaciones de **GNAS1**, respectivamente, contribuyen a la patogénesis genética (Rostomyan y Beckers, 2016).

La microduplicación del cromosoma **Xq26.3** causa **acrogigantismo** ligado al cromosoma X (**XLAG**). Dentro de dicho cromosoma, se cree que **GPR101** es el gen causante. Las características patológicas de los adenomas hipofisarios asociados a **XLAG** son típicas y, junto con el fenotipo clínico, deben impulsar la realización de pruebas genéticas (Iacovazzo D y col. 2016).

Los somatotropinomas secretores representan el tipo de tumor hipofisario más determinado genéticamente. Esto es cierto tanto para la línea germinal como para las mutaciones somáticas. Las mutaciones de la línea germinal ocurren en varios genes conocidos (**AIP**, **PRKARIA**, **GPR101**, **GNAS**, **MEN1**, **CDKN1B**, **SDHx**, **MAX**),

así como en casos familiares con genes actualmente desconocidos, mientras que las mutaciones somáticas en **GNAS** están presentes en un 40% de los tumores. Si la enfermedad comienza antes de la fusión de la epífisis, entonces puede desarrollarse un crecimiento acelerado y un aumento de la altura final, o gigantismo, donde se puede identificar un trasfondo genético en la mitad de los casos. El adenoma hipofisario hereditario secretor de GH puede manifestarse como FIPA, incluidos casos con mutaciones de **AIP** o **GPR101** duplicaciones (acrogigantismo ligado al cromosoma X, XLAG) o pueden ser parte de enfermedades sistémicas como neoplasia endocrina múltiple tipo 1 o tipo 4, síndrome de McCune-Albright, complejo de Carney o asociación de feocromocitoma/paraganglioma/ adenoma pituitario. La identificación de mutaciones genéticas permite el cribado adecuado de las comorbilidades asociadas, así como la búsqueda de familiares afectados antes de la manifestación clínica de la enfermedad (Bogusławska y Korbonits, 2021).

7.5 Genética del enanismo y la acondroplasia

A. Enanismo hipofisario primario (fig. 7.8)

Ambos padres tienen un alelo dominante **R** que sería el de un crecimiento normal, pero además, ambos portan el gen recesivo **r**, que lleva la información de *enanismo primario*. Se comunicaron mutaciones en el gen *pericentrina* (**PCNT**) como la causa de enanismo primordial. Este gen tiene un rol en la citocinesis de las 2 células hijas.

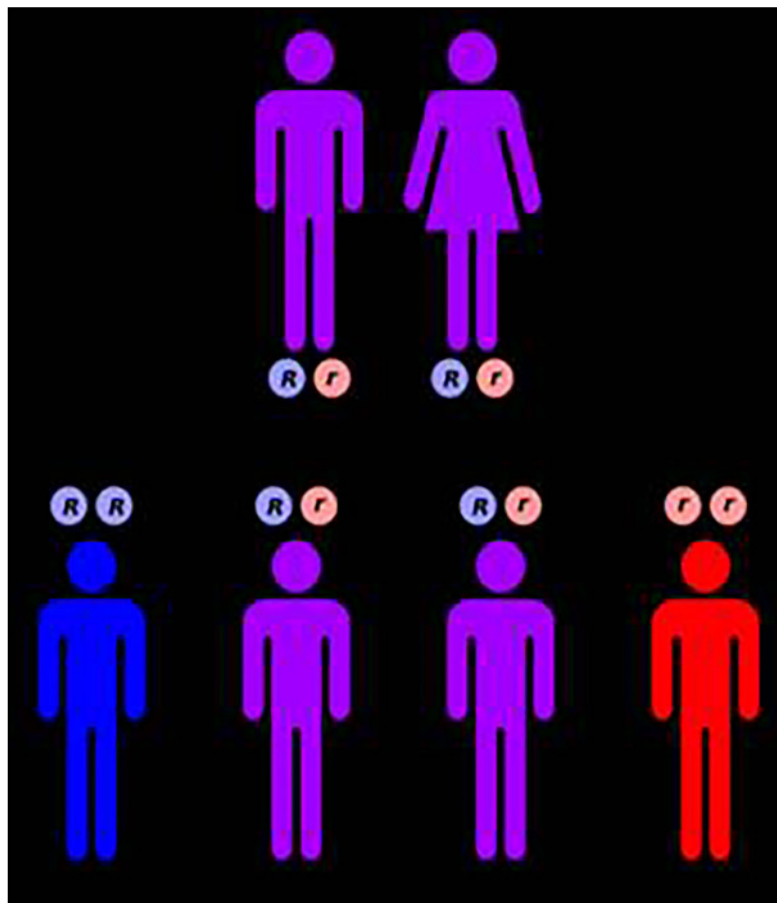


Fig. 7.8 Transmisión del enanismo hipofisario primario (slideshare).

La información del alelo dominante **R**, es la que se manifiesta en ambos progenitores, pero como la reproducción es proceso guiado por el azar, ambos genes pueden combinarse de distintas formas y resultar (caso en rojo) que ambos alelos recesivos coincidirán en un individuo, haciendo que sea inevitable el padecimiento de esta enfermedad.

B. Acondroplasia

Es la forma más común de **enanismo** (70%). Es una enfermedad *autosómica dominante con penetrancia completa*. Se debe a una mutación en el gen del receptor 3 del *factor de crecimiento fibroblástico* (FGFR3) en el **cromosoma 4** (4p16.3) (fig. 7.9).

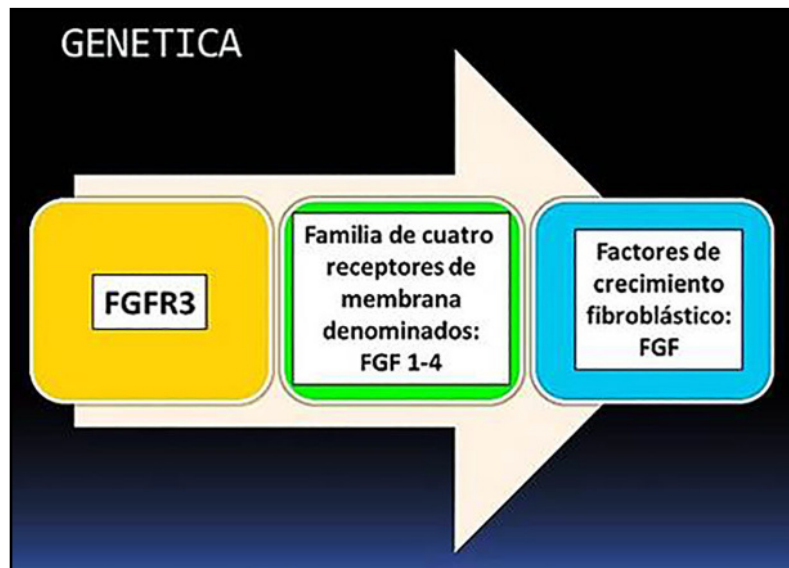


Fig. 7.9 Genética de la acondroplasia (slideshare).

El 90% se debe a mutaciones nuevas que se originan en las células germinales de padres sanos, asociada a una edad aumentada. En la mayoría de los casos (97%) la mutación presente es la transición G1138A, en el dominio transmembrana del gen. En el resto se presenta la transversión en el dicho nucleótido.

La **fig. 7.10** muestra el tipo de herencia de la **acondroplasia**.



Fig. 7.10 Tipo de herencia de la acondroplasia (slideshare).

La **fig. 7.11** muestra el cromosoma 4 y el gen de la acondroplasia:

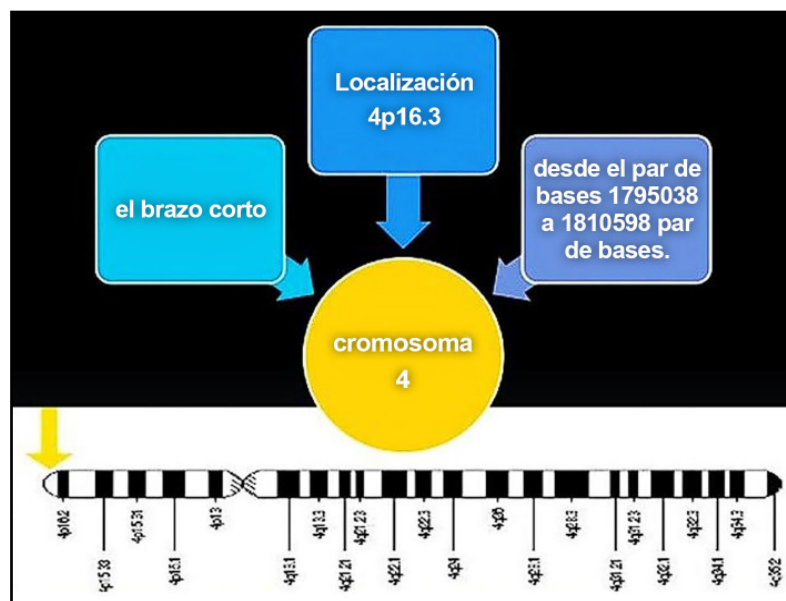


Fig. 7.11 Gen de la acondroplasia en cromosoma 4 (slideshare).

Las mutaciones autosómicas dominantes en el *receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR3)* causan **acondroplasia**, la forma más común de enanismo en humanos, y síndromes de condrodisplasia relacionados que incluyen hipocondroplasia, acondroplasia severa con retraso en el desarrollo, acantosis nigricans y displasia tanatofórica. El **FGFR3** se expresa en condrocitos y osteoblastos maduros donde funciona para regular el crecimiento óseo. El análisis de las mutaciones en **FGFR3** reveló un aumento de la señalización a través de una combinación de mecanismos que incluyen estabilización del receptor, dimerización mejorada y actividad mejorada de tirosina quinasa. Paradójicamente, el aumento de la señalización de **FGFR3** suprime la proliferación y maduración de los condrocitos de la placa de crecimiento, lo que resulta en una disminución del tamaño de la placa, reducción del volumen de hueso trabecular, y la consiguiente disminución del alargamiento óseo (Laederich MB y col., 2012; Ornitz DM, Legeai-Mallet L., 2017).

La **acondroplasia** y la **hipocondroplasia** son displasias esqueléticas de herencia autosómica dominante que representan diferentes grados de gravedad de una misma entidad patológica. Ambas displasias son causadas por mutaciones en el gen del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (**FGFR3**). Se evaluó la frecuencia de mutaciones **N540K** y **G380R**, así como los cambios en el locus 650 en pacientes con talla baja idiopática desproporcionada, hipocondroplasia y acondroplasia. Tres de cada cinco pacientes con hipocondroplasia eran heterocigotos para la mutación **N540K**. Los 4 pacientes con acondroplasia presentaron la mutación **G1138A** (Mancilla y col., 2003). La **acondroplasia**, el tipo más común de **enanismo genético** caracterizado por una estatura baja desproporcionada y otras anomalías esqueléticas, resulta de un defecto en la maduración de los condrocitos en el cartílago de la placa de crecimiento. La hipocondroplasia, considerada alélica a la acondroplasia, es clínica y genéticamente heterogénea. Se mapeó el gen en el cromosoma 4p16.3 y se han descrito mutaciones en **FGFR3**. Todos los pacientes acondroplásicos han mostrado la misma mutación **Gly380Arg** y cinco pacientes hipocondroplásicos presentaron la mutación **Asn540Lys** en el dominio tirosina quinasa proximal (Ezquieta Zubicaray y col., 1999). Bellus y col. (1995) identificaron mutaciones recurrentes en el dominio tirosina quinasa del gen **FGFR3** en pacientes con hipocondroplasia. Más del 95% de los 242 casos notificados hasta ahora se explican por una sola mutación **Gly380Arg**.

7.6 Genética de la enfermedad de Cushing (EC) y del síndrome de Cushing (SC)

La mayoría de los casos de Cushing no son heredables. Sin embargo, algunos pacientes pueden heredar la tendencia a desarrollar *corticotropinomas* y tumores suprarrenales. En la hiperplasia suprarrenal bilateral macronodular de niños o adultos jóvenes pueden desarrollarse pequeños tumores productores de cortisol en las glándulas suprarrenales.

7.6.1 Enfermedad de Cushing (EC)

La EC surge de un exceso de glucocorticoides dependiente de la hipófisis debido a un corticotropinoma secretor de ACTH. Los impactos genéticos en los oncogenes y los genes supresores tumorales que afectan a otros subtipos de tumores hipofisarios no se encuentran en los corticotropinomas. Se detectó un hotspot mutacional somático en hasta la mitad de los corticotropinomas en el gen **USP8** que codifica una proteína que altera la regulación a la baja del receptor del factor de crecimiento epidérmico (**EGFR**) y permite su señalización constitutiva. El EGF es un regulador importante de la función corticotropa y su receptor está altamente expresado en los tumores pituitarios de Cushing, donde conduce a un aumento de la síntesis de ACTH. El hotspot mutacional que se encuentra en los corticotropinomas hiperactiva la **USP8**, lo que le permite rescatar al EGFR de la degradación lisosomal y garantizar su señalización estimulante. El sistema **USP8-EGFR** es un desencadenante y objetivo de la tumorigénesis corticotropa (Theodoropoulou y col. 2015) (figs. 7.12-7.13).

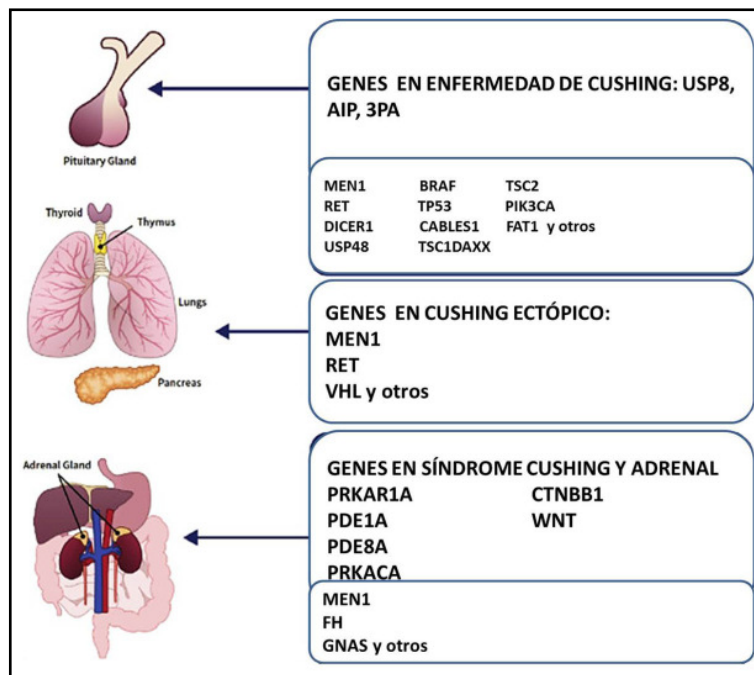


Fig. 7.12 Genes en EC (ScienceDirect).

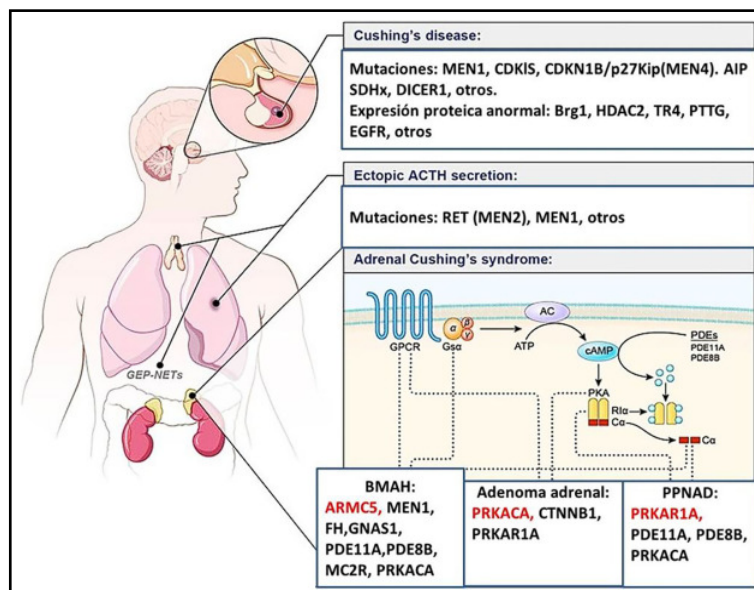


Fig. 7.13 Mutaciones en la enfermedad de Cushing (EC) (ResearchGate).

En el **cuadro 7.1A** se muestran causa genéticas de la EC y ACTH ectópica.

7.1A Origen	Lesión	Clínica	Causas genéticas
Enf. Cushing (EC) (60-70%)	Corticotropinoma	Cushing esporádico	USP8, GNAS, RASD1
		Complejo de Carney	PRKAR1A
		Adenoma pituitario familiar aislado	AIP
		CD familiar con baja penetrancia	CABLES1
		Neoplasia endocrina múltiple tipo 1	MEN1
		Neoplasia endocrina múltiple tipo 2	RET
		Feocromocitoma/paraganglioma y adenoma pituitario	
		Neoplasia endocrina múltiple tipo 4	CDKN1B
		Esclerosis tuberosa	TSC1/ TSC2
ACTH ectópica (5-10%)	Carcinoma medular tiroideo	Carcinoma medular tiroideo aislado	RET
		Neoplasia endocrina múltiple tipo 2	
	Otros tumores neuroendocrinos	Carc. pulmonar de células pequeñas	Pérdida: 3p23-p21. TP53 y RB1
		Neoplasia endocrina múltiple tipo 1	MEN1
	Tumores neuroendocrinos benignos	Neoplasia endocrina múltiple tipo 2	RET
		Neurofibromatosis tipo 1	NF1
		Von Hippel-Lindau	VHL
		Paraganglioma/feocromocitoma	SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SDHAF2, FH, MAX, TMEM127

La EC es una enfermedad grave causada generalmente por microcorticotropinomas y en el 7-20% de los pacientes por macrocorticotropinomas. Las mutaciones de **USP8** se han identificado como una de las principales causas genéticas de EC (~ 50%). Se detectaron 4 mutaciones de **USP8** diferentes en el 23,4% corticotropinomas. Los niveles de cortisol urinario de nuestros pacientes con alelos mutados de corticotropina **USP8** fueron más bajos que los de los pacientes con alelos de tipo salvaje (WT). La frecuencia de alelos con mutación de **USP8** fue del 30% con una mayor prevalencia en pacientes de sexo femenino (Quevedo Wanichi I y col., 2019). El *gen de la proteasa 8 específica de ubiquitina* se muta con frecuencia en los adenomas que causan EC. Se registraron mutaciones somáticas en **USP8** en 36% de adenomas hipofisarios de pacientes con EC. Las mutaciones se encontraron principalmente en adenomas de 10 mm y se asociaron de modo inverso con el desarrollo de insuficiencia suprarrenal posoperatoria. Las mutaciones mejoraron la actividad de **USP8** (Pérez-Rivas LG y col., 2015). Los cribados basados en hipótesis han llevado a la identificación de alteraciones raras en un número reducido de pacientes. Utilizando la secuenciación del exoma completo, se han informado

mutaciones recurrentes en el gen que codifica la **USP8**, una proteína con actividad de ubiquitinasa que modula el recambio lisosómico del receptor EGF (**EGFR**). Se han identificado mutaciones en **USP8** en 35-62% de los corticotropinomas esporádicos funcionantes que causan la EC, pero no en ningún otro tipo de tumor hipofisario. Estas mutaciones se encuentran en pacientes mujeres adultas y conducen a una activación aberrante de la deubiquitinasa al alterar la regulación de **USP8** (Pérez-Rivas LG, Reincke M., 2016).

La EC es causada por corticotropinomas cuya mayoría son monoclonales y ocurren esporádicamente. Rara vez surge la EC en el contexto de síndromes genéticos familiares. La secuenciación dirigida de oncogenes y genes supresores tumorales comúnmente mutados en otros tumores no identificó mutaciones recurrentes. Por el contrario, la secuenciación de próxima generación nos permitió aclarar la base genética de la EC: identificamos mutaciones impulsoras somáticas en el *gen de la proteasa 8 específica de ubiquitina (USP8)* en una porción significativa de *corticotropinomas*. La inhibición de la **USP8** o sus vías de señalización podría representar un nuevo enfoque terapéutico para el manejo de la EC (Albani A y col., 2018). Los estudios han informado que varios genes mutados están asociados con la EC como la **menina 1**, proteína que interactúa con el receptor de aril hidrocarburo y el miembro 1 del grupo C de la subfamilia 3 del receptor nuclear y también las mutaciones de la *proteasa 8 específica de ubiquitina o USP8* (Xiong y ge, 2016). Se identificaron mutaciones de **USP8** en 29 adenomas (23%). Los adenomas que presentaban mutaciones de **USP8** secretaron mayores cantidades de ACTH y expresaron POMC en niveles más altos en comparación con las muestras de tipo salvaje de USP. Los adenomas mutantes **USP8** también fueron más sensibles a la modulación por CRH y dexametasona *in vitro*. La inhibición de la vía ubiquitina-proteasoma aumentó la secreción de ACTH y POMC demostró ser un objetivo de ubiquitinación, independiente del estado de la secuencia de USP8. Se demostró que los corticotropinomas mutantes de **USP8** presentan un fenotipo corticotropo más típico y una expresión reducida de varios genes asociados con la degradación de proteínas. Además, la ubiquitinación está implicada en el recambio de ACTH intracelular, lo que sugiere que el sistema ubiquitina-proteasoma puede representar un objetivo para el tratamiento de los corticotropinomas (Sesta A y col., 2020).

7.6.2 Síndrome de Cushing (SC)

La **fig. 7.14** muestra una etiología del **síndrome de Cushing (SC)**: gen HLA-B8 (80%).

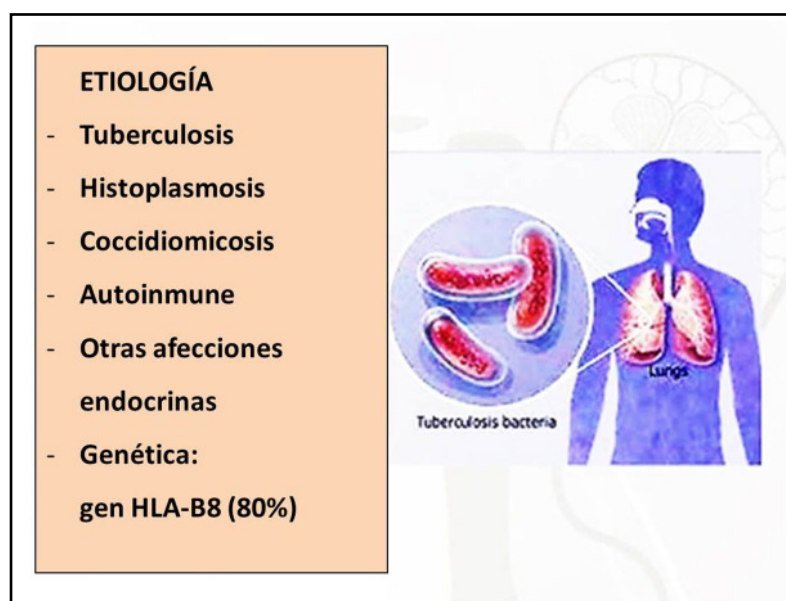


Fig. 7.14 Etiología del síndrome de Cushing (SC) (slideshare).

Cuadro 7.1 B: muestra las bases genéticas de las enfermedades adrenales con SC

Adrenal primario (20-30%)	Adenoma secretor de cortisol	Síndrome Cushing esporádico	PRKACA
	Hiperplasia adrenal macronodular primaria (PMAH)	Neoplasia endocrina múltiple tipo1	MEN1
		Poliposis adenomatosa familiar	APC
		Síndrome Cushing esporádico	ARMC5
	Enfermedad adrenocortical nodular pigmentada (PPNAD)	Síndrome Cushing esporádico	PRKAR1A
	Enf. adrenal micronodular aislada (Imad)	Síndrome Cushing esporádico	PDE8B, PDE11A, PRKACA
	Enf. adrenocortical bimórfica primaria	Síndrome McCune-Albright	Mosaico GNAS
	Carcinoma adrenocortical	Poliposis adenomatosa familiar	APC
		Síndrome Cushing esporádico	ZNRF3, APC, CTNNB1, CDKN2A, CDK4, B1,MDM2, TP53,MEN1, DAXX, ATRX
		Síndrome Becwith-Wiedemann	CDKN1C, WTX
Síndrome Li-Fraumeni		TP53	
Neoplasia endocrina múltiple tipo1		MEN1	
Síndrome RubinsteinTaibi		CREBBP o EP300	

El conocimiento de las causas genéticas del **SC** tiene implicaciones potenciales para el tratamiento, la vigilancia, el asesoramiento, la técnica quirúrgica, las modalidades de radiación y las terapias médicas (Lodish, 2015).

- **Síndrome de Cushing familiar:** algunas personas con trastornos genéticos raros son más vulnerables a los tumores en una o más glándulas que influyen sobre los niveles de *cortisol*. Dos de estas enfermedades son la **neoplasia endocrina múltiple tipo 1** y la **enfermedad suprarrenal micronodular pigmentada primaria**.

Varios genes contribuyen a la patogénesis del Cushing. Los defectos del gen de la línea germinal, como **MEN1**, **AIP**, **PRKAR1A** y otros, a menudo se presentan en pacientes con afectación pituitaria o suprarrenal como parte de un síndrome genético. Los defectos somáticos en genes, como **USP8**, **TP53** y otros, también están involucrados en el desarrollo de tumores hipofisarios o suprarrenales en un gran porcentaje de pacientes con Cushing que brindan información sobre las vías involucradas en la tumorigénesis pituitaria o suprarrenal (Tatsi C y col., 2020). El conocimiento sobre las causas moleculares y genéticas del **SC** ha aumentado en los últimos años. Las mutaciones somáticas que conducen a 3', 5'-adenosina monofosfato cíclico/proteína quinasa A hiperactiva y vías de la familia del sitio de integración **MMTV de tipo sin alas/beta-catenina** son los principales mecanismos moleculares subyacentes a la tumorigénesis adrenocortical. Los corticotropinomas

se caracterizan por resistencia a la retroalimentación negativa de glucocorticoides, alteración del control del ciclo celular y sobreexpresión de vías que sostienen la secreción de ACTH. Reconocer los defectos genéticos detrás de la tumorigénesis corticotropa y adrenocortical resulta crucial para adaptar el manejo clínico de los pacientes con SC y para diseñar estrategias para el asesoramiento genético y el cribado clínico que se aplicarán en la práctica médica habitual (Hernández-Ramírez LC, Stratakis CA, 2018). En el contexto del SC, los análisis genómicos pueden realizarse en tumores de Cushing endógeno o en pacientes expuestos a exceso de glucocorticoides. La genómica tumoral identificó varios genes nuevos, incluido el **ZNRF3** en los carcinomas adrenocorticales, **PRKACA** en los adenomas suprarrenales productores de cortisol, **ARMC5** en la hiperplasia suprarrenal macronodular primaria y **USP8** en los corticotropinomas. Además, la epigenómica está emergiendo como un excelente conjunto de herramientas para caracterizar tumores, desentrañando aspectos de la tumorigénesis (Assié, 2018).

La **hiperplasia suprarrenal macronodular primaria (PMAH)** es una causa poco común del SC que se caracteriza por macronódulos suprarrenales funcionales y aumento de la producción de cortisol. Se ha descrito la agrupación familiar de PMAH, lo que sugiere una causa genética hereditaria de esta afección. Las mutaciones hereditarias autosómicas dominantes en el gen **ARMC5** son una causa frecuente de PMAH (Alencar GA y col., 2014). Los estudios han detectado mutaciones **ARMC5** en familias de BMAH. La evaluación preclínica no predijo el estado de la mutación. La familia **ARMC5**-negativa tenía hiperaldosteronismo prominente inusual. Se necesitan más estudios para determinar la penetrancia de BMAH en parientes positivos para la mutación **ARMC5** de pacientes afectados, la utilidad práctica del cribado genético y las correlaciones genotipo-fenotipo (Gagliardi L y col., 2014). Se han encontrado mutaciones en **ARMC5**, un supuesto gen supresor, en muchos casos familiares de PMAH y se cree que son responsables del trastorno. Como estos nódulos producen cortisol de manera ineficaz, se requieren nódulos grandes para producir un síndrome clínico. Es probable que **ARMC5** requiera una segunda mutación somática para que sea clínicamente evidente (Ravikumar A, Levine AC., 2015).

7.7 Genética del complejo de Carney (CNC)

Es un síndrome de neoplasia endocrina múltiple y lentiginosis autosómica dominante poco común, causado en la mayoría de los pacientes por defectos en el gen **PRKARIA**, que codifica la subunidad reguladora tipo 1α de la proteína quinasa A. Defectos inactivadores de **PRKARIA** conducen a una señalización aberrante de la proteína quinasa A cíclica-AMP. Los pacientes pueden desarrollar múltiples anomalías cutáneas y una variedad de tumores endocrinos y no endocrinos. Las manifestaciones endocrinas incluyen **enfermedad adrenocortical nodular pigmentada primaria**, que puede causar **síndrome de Cushing**, somatotropinoma e hiperplasia somatotropa que puede resultar en acromegalia, así como tumores gonadales y tiroideos. Los tumores no endocrinos asociados con el complejo de Carney incluyen mixomas cardíacos, schwannomas melanóticos, adenomas ductales de mama, osteocondromixomas y predisposición a una serie de neoplasias suprarrenales, pancreáticas y hepáticas (Kamilaris y col., 2019). El complejo de Carney (CNC) es un síndrome de neoplasia múltiple que se hereda como un rasgo autosómico dominante y los genes responsables se han mapeado en **2p16** y **17q22-24**. En el mapeo de familias de CNC a 17q, se detectó pérdida de heterocigosidad (**LOH**) en la vecindad del gen **PRKARIA** que codifica la subunidad reguladora 1-alfa de la proteína quinasa A (**RIα**), incluido un sitio polimórfico dentro de su región 5'. El análisis de la actividad de **PKA** en tumores CNC demostró una actividad basal disminuida, pero un aumento en la actividad estimulada por

AMPC en comparación con los tumores no CNC. Las mutaciones de la línea germinal en **PRKAR1A** son responsables del fenotipo (Kirschner y col., 2000) (fig. 7.15).

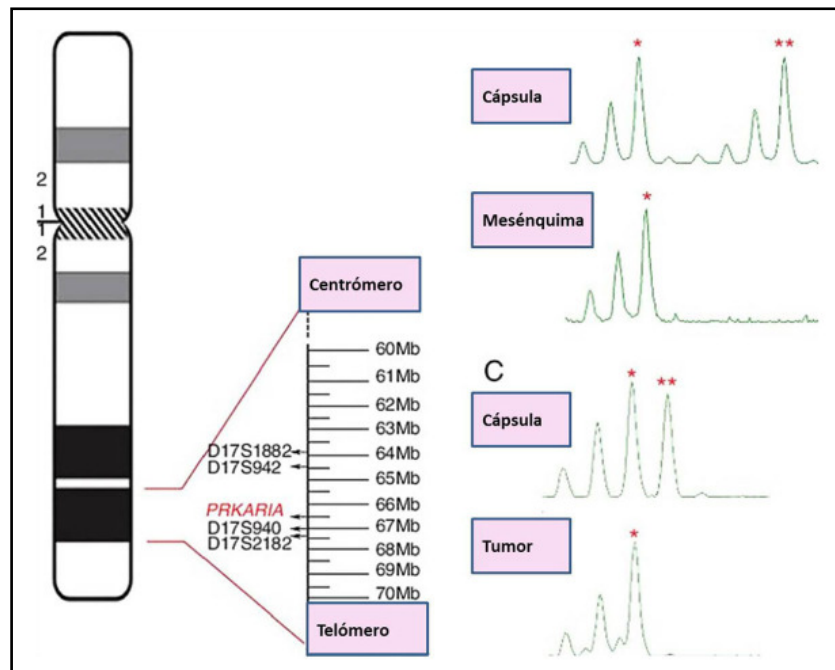


Fig. 7.15 Ideograma del cromosoma 17 y marcadores microsatélites polimórficos y representativos de PRKAR1A con pérdida de heterocigosidad (LOH)

(A) Marcadores de ADN polimórfico ubicados en el brazo largo del cromosoma 17, incluidos D17S1882 (17q24.1), D17S942 (17q24.2), D17S940 (17q24.2) y D17S2182 (17q24.3) que se utilizan para evaluar LOH en el locus genético PRKAR1A. (B-C) Pérdida del alelo largo en el marcador D17S1882 en el mesénquima del caso 3 (B) y en el tumor del caso 5 (C) en comparación con el ADN normal emparejado. * alelo corto, ** alelo largo.

7.8 Genética de la diabetes insípida (DI)

En la fig. 7.16 se presenta la etiología de la DI.

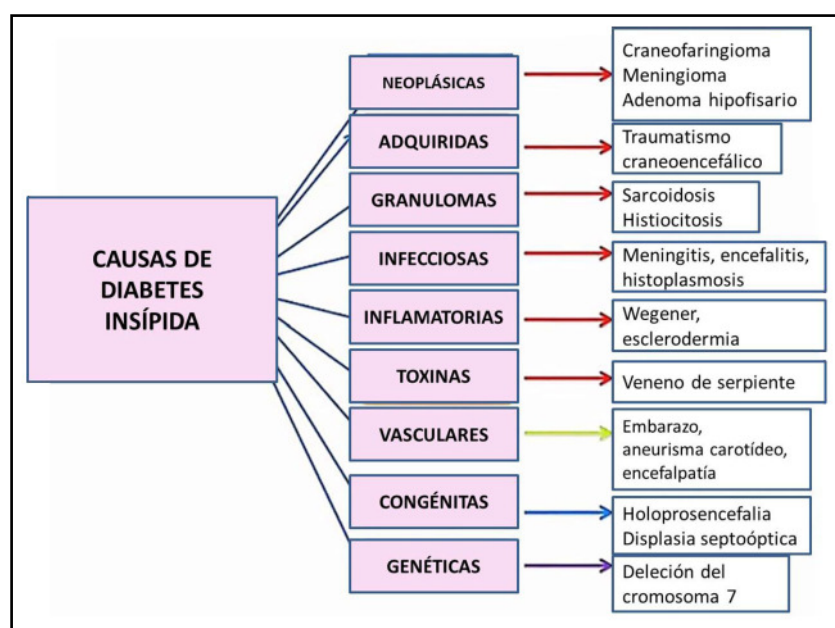


Fig. 7.16 Causas de DI (slideshare).

La DI presenta una mutación en el gen **AVP** ubicado en el *cromosoma 20p13* que codifica para una proteína **arginina-vasopresina** y dos proteínas asociadas, la *neurofisina 2* y la *copeptina*. La mayoría tiene un patrón de herencia autosómica dominante. Algunos casos muestran patrón autosómico recesivo o ligado al X. Hay deleción del cromosoma 7 y mutación en el cromosoma 20 (**fig. 7.17**).

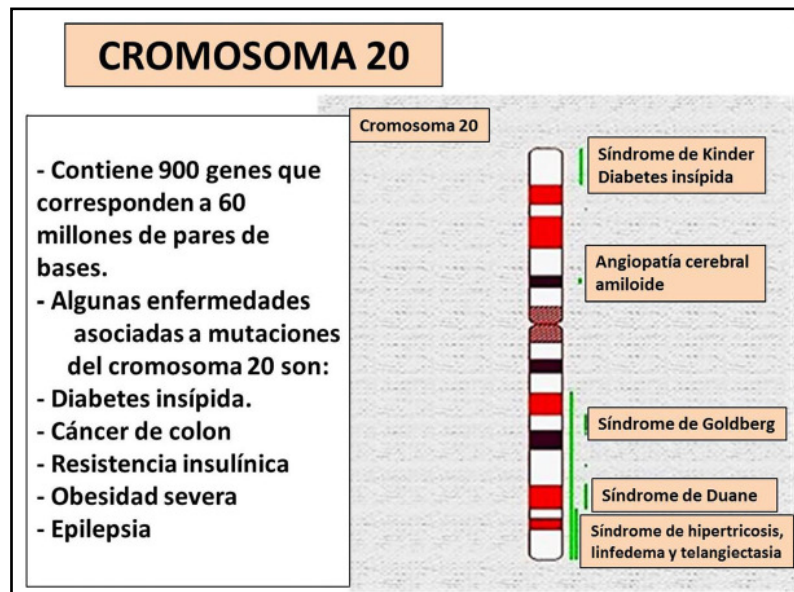


Fig. 7.17 DI asociada al cromosoma 20 (slideshare).

En la **fig. 7.18** se presenta el gen del receptor AVP.

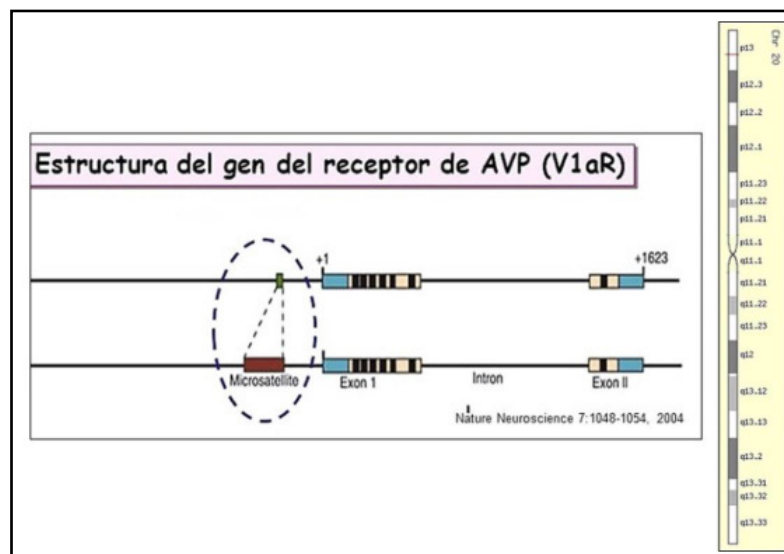


Fig. 7.18 Gen receptor de AVP Gen del receptor AVP (Slideplayer/Genecards).

- **Diabetes insípida central familiar (DI)**: trastorno autosómico dominante, causado por mutaciones en el gen de la **arginina vasopresina o neurofisina II (AVP-NPII)** que conduce a un procesamiento aberrante con destrucción gradual de las células secretoras de **AVP**. El análisis genético reveló una mutación en el exón 2 del gen **AVP-NPII** (Turkkahraman y col., 2015). Se han identificado más de 50 mutaciones para la *diabetes insípida neurogénica autosómica dominante familiar* (FadNDI). La DI se caracteriza por poliuria y polidipsia causadas por una producción deficiente de la hormona **AVP**. Las mutaciones pueden inducir degeneración neuronal por acumulación de proteínas (Peralta Leal y col., 2008).

- **DI nefrogénica congénita:** mutaciones ligadas al cromosoma X a nivel del receptor V2 (Xq28) (90%) y autosómica congénita a nivel del gen de la acuaporina 2 (10%) (**fig. 7.19**).

<p>DI NEFROGÉNICA CONGÉNITA</p> <p>Se manifiesta desde la primera semana de vida con vómitos, estreñimiento, hipertermia e hipernatremia.</p>	Ligada al cromosoma X	Congénita autosómica
	<p>- Causa congénita más frecuente.</p> <p>- Mutaciones en el receptor V2 (Xq28).</p> <p>Tres tipos de mutaciones:</p> <p>- Expresión del receptor con baja afinidad a ADH.</p> <p>- Tráfico defectuoso del receptor.</p> <p>- Reducción de la transcripción del gen codificador.</p>	<p>- 10% de los casos.</p> <p>- Mutaciones en el gen acuaporina 2, cromosoma 12q13.</p> <p>- Autosómica</p> <p>- Dominante</p> <p>- Recesiva</p>

Fig. 7.19 DI nefrogénica congénita: mutaciones (slideshare).

En la **fig. 7.20** se presentan las mutaciones del gen AQP2.

<p>AQP2</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Participa en las etapas finales de la concentración de la orina en los conductos colectores renales. • Se halla en forma de vesículas intracelulares. • Por acción de la ADH se exocita a la membrana apical permitiendo la reabsorción de agua del filtrado glomerular. • Los pacientes con mutaciones en el gen AQP2 padecen una forma severa de diabetes nefrogénica y pueden liberar hasta 20 litros de orina por día. • Se piensa que la sobreexpresión de AQP2 puede contribuir en estados de retención de líquido en pacientes con falla cardíaca o embarazadas.

Fig. 7.20 Mutaciones en el gen AQP2 (slideshare).

7.9 Genética de los adenomas hipofisarios

Los microARN (**miARN**) son una clase importante de reguladores de la expresión génica. La expresión alterada de **miARN** se ha halló en neoplasias humanas y juega un papel importante en el proceso de tumorigénesis. **Se identificó** un subconjunto específico de **miARN**: 34b, 326, 432, 548c-3p, 570 y 603, cuya regulación a la baja podría contribuir al desarrollo de somatotropinomas. Se demostró que los genes diana de **miARN** como el grupo de alta movilidad A1 (**HMG1A1**), **HMG1A2** y **E2F1**, cuya sobreexpresión juega un papel crítico en la tumorigénesis pituitaria. Además, se detectó una correlación inversa entre la expresión de dichos **miARN** y los niveles de proteína **HMG1A1** y **HMG1A2** en los somatotropinomas (D'Angelo y col, 2012).

Se identificaron los mecanismos moleculares que subyacen a la formación de somatotropinomas secretores. Se registraron mutaciones en la subunidad α del gen estimulante G (**GNAS**) en un 40% de los

pacientes. Los tumores con mutaciones mostraron niveles preoperatorios de IGF-I/GH más altos que los tumores sin mutaciones (Freda y col., 2007).

El gen del retinoblastoma (**Rb**) está mutado en varios tipos de cáncer humano y es el mejor caracterizado de los genes supresores de tumores. Se ha construido una cepa de ratón en la que se interrumpe un alelo de **Rb**. Estos animales heterocigotos no están predispuestos al retinoblastoma, pero algunos presentan *tumores hipofisarios* que surgen de células en las que está ausente el alelo **Rb** de tipo salvaje. Los embriones homocigotos para la mutación mueren entre los días 14 y 15 de gestación, exhibiendo muerte celular neuronal y eritropoyesis defectuosa (Jacks y col., 1992). Los ratones heterocigotos **Rb** desarrollan *tumores hipofisarios* con una incidencia del 100% y para ello se requieren los factores de transcripción **E2F**. Se comunicó que la desregulación a corto plazo de la actividad de **E2F** es capaz de inducir la proliferación anormal de melanotropas. Sin embargo, aunque la exposición a largo plazo al **E2F** desregulado da como resultado una hiperplasia del lóbulo intermedio, no condujo a la formación de tumores. Las melanotropas se vuelven insensibles a la estimulación **E2F** sostenida y entran en un estado irreversible similar a la **senescencia**. Se concluyó que la actividad de **E2F** desregulado no es suficiente para imitar la pérdida de **Rb** debido a la participación de una respuesta de senescencia (Lazzerini y col., 2005) (figs. 7.21-7.22).

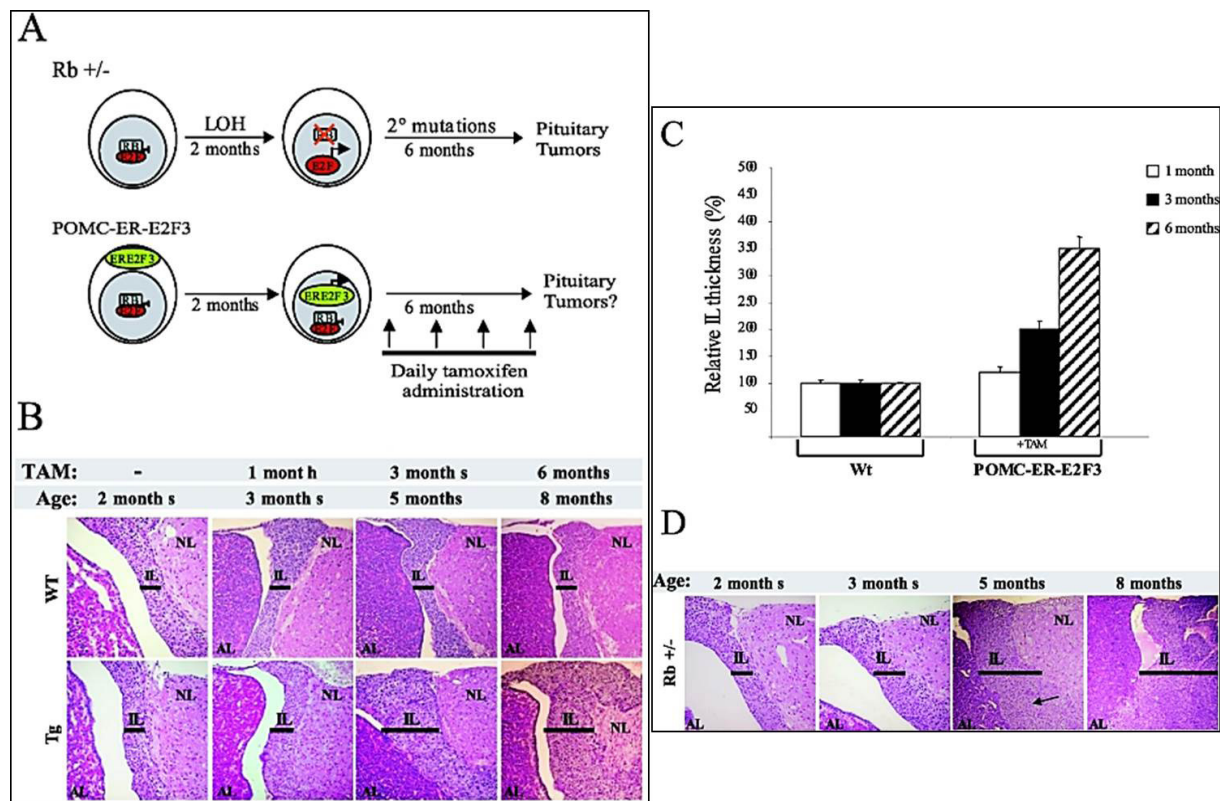


Fig. 7.21 Actividad desregulada de E2F inductora de hiperplasia (Lazzerini y col., 2005).

(A) Pasos tumorigénicos que conducen a tumores del lóbulo intermedio en ratone **Rb (+/-)** y enfoque experimental utilizado en este estudio (panel inferior). (B) La activación de **E2F3** da **hiperplasia** (H-E). Pituitarias transgénicas y de tipo salvaje tratadas durante 0, 1, 3 y 6 meses con inyecciones diarias de tamoxifeno (TAM). Hay agrandamiento del lóbulo intermedio en ratones transgénicos tratados durante 3 meses y 6 meses. (C) El gráfico de barras indica el grosor relativo del tratamiento con ontamoxifeno del lóbulo intermedio para los tiempos indicados en animales transgénicos en relación con los animales de tipo salvaje. (D) Focos neoplásicos en ratones heterocigotos **Rb**.

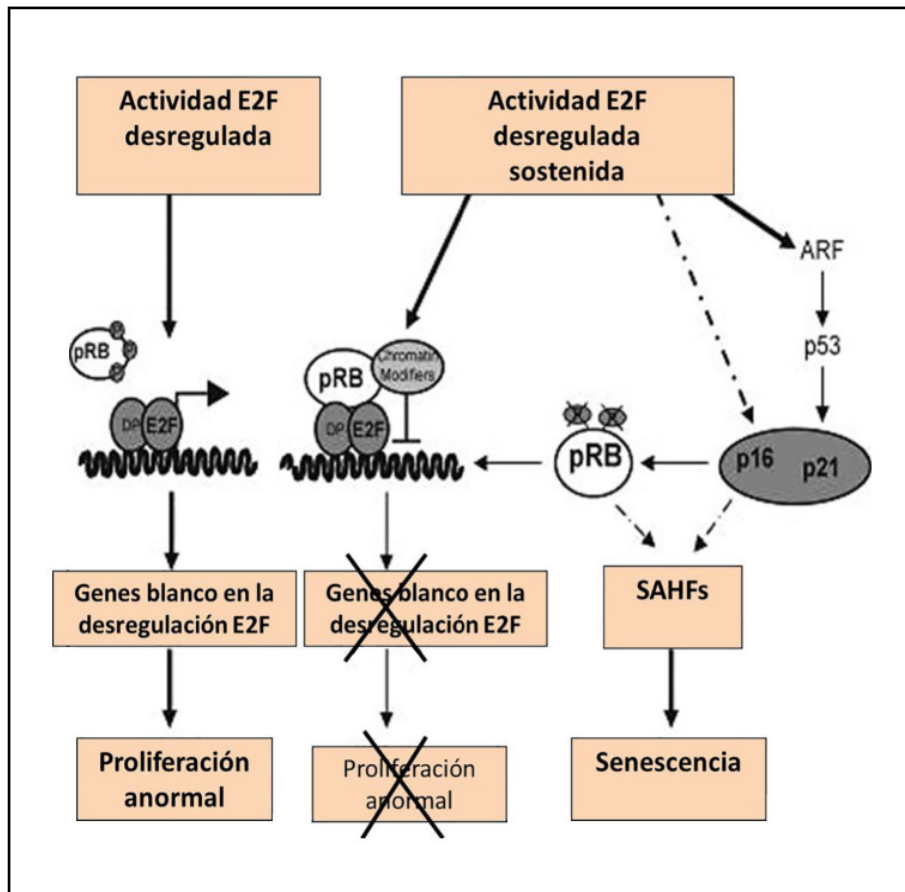


Fig. 7.22 Modelo de respuesta bifásica a la desregulación E2F (Lazzerini y col., 2005).

La heterocigosidad del gen **Rb1** del retinoblastoma provoca tumorigénesis en tejidos susceptibles tras la pérdida espontánea del alelo funcional restante. La inactivación de la proteína del retinoblastoma (**pRb**) se dirige a inhibir parcialmente la tumorigénesis en ratones **Rb1** (+/-). Se informó que la inactivación de **pRb** diana **Skp2** previene la tumorigénesis espontánea en ratones **Rb1** (+/-). La delección de **Rb1** dirigida a las melanotropas elimina todo el lóbulo intermedio de la hipófisis cuando se inactiva **Skp2**. La inactivación de **Skp2** no inhibe la proliferación aberrante de melanotropas con delección de **Rb1**, pero induce su *apoptosis*. Los resultados revelan que **Skp2** se convierte en un gen de supervivencia esencial cuando las células susceptibles incurren en deficiencia de **Rb1** (Wang y col., 2010).

El supresor de tumores de retinoblastoma (**RB**) es un regulador crucial de la progresión del ciclo celular que se invoca en respuesta a una gran cantidad de señales antimitogénicas.

Se ha planteado la hipótesis de que las perturbaciones de la vía **RB** confieren una ventaja proliferativa a las células tumorales. La pérdida de la función **RB** se asocia con una respuesta diferencial a agentes terapéuticos de amplio espectro. Por lo tanto, el estado de este supresor de tumores puede ser informativo para dirigir los regímenes de tratamiento (Knudsen, 2008) (figs. 7.23-7.24).

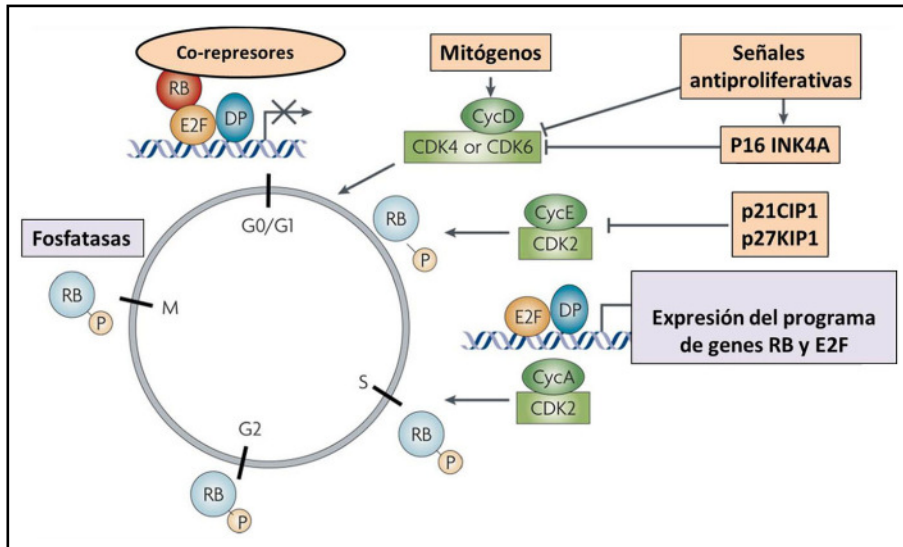


Fig. 7.23 Esquema de RB en el control del ciclo celular (Knudsen, 2008).

Las señales mitogénicas estimulan la expresión de ciclinas de tipo D (**Cyc**) y un aumento concomitante de la actividad de las quinasas 4/6 dependiente de ciclina (**CDK4** y **CDK6**). Estos factores inician la fosforilación de **RB**, que se ve aumentada por la actividad de los complejos de **CDK2** con las **ciclinas A** y **E**. La fosforilación de **RB** interrumpe su asociación con **E2F**. Esta inactivación de **RB** provoca la expresión de un programa transcripcional que permite la progresión a través de la fase S y la mitosis. En la transición de la mitosis a G1, el **RB** se desfosforila mediante de las **fosfatasa**s. Es importante destacar que un gran número de señales antimitogénicas funcionan para prevenir la fosforilación de **RB**, ya sea limitando la actividad de los complejos **CDK4/6/2** o induciendo la actividad de los inhibidores de **CDK**.

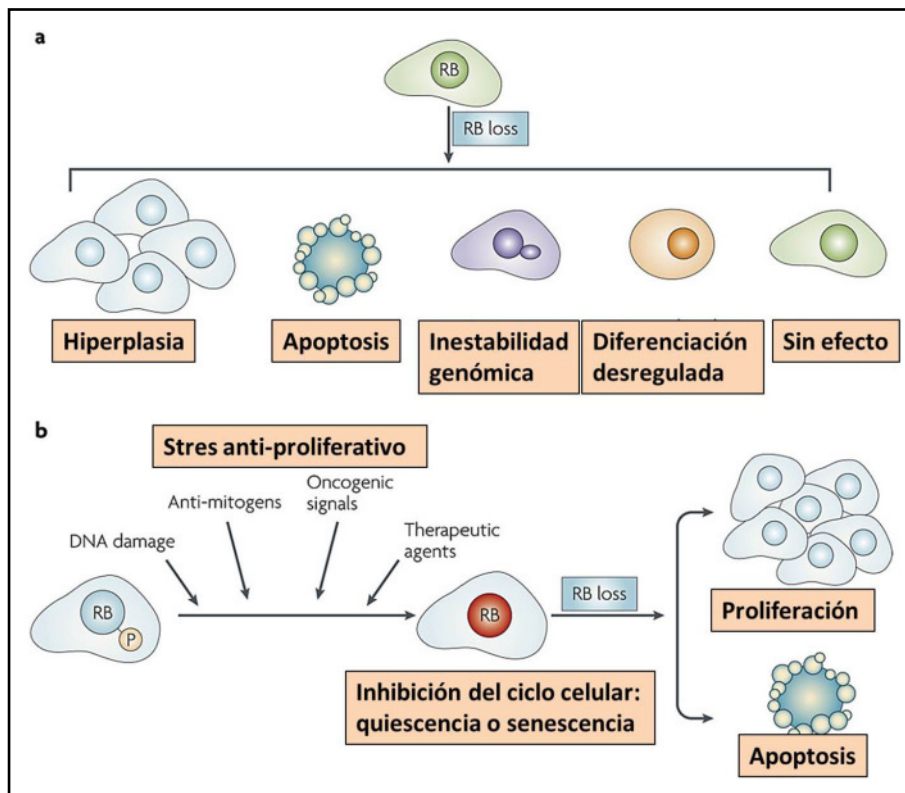


Fig. 7.24 Influencia de la pérdida de RB: dependencia del contexto (Knudsen, 2008).

a. La *pérdida de RB* conduce a hiperplasia o inestabilidad del genoma, en diferentes contextos celulares y tisulares. **b.** Algunas señales conducen a la desfosforilación y **activación de RB** que puede mediar en la inhibición del ciclo celular que conduce a la quiescencia o senescencia. Con la **pérdida de RB**, es posible escapar de la inhibición del ciclo celular y progresar hacia la *proliferación* o la *apoptosis*.

Se investigó la **metilación de la isla CpG** contenida dentro de la región promotora del gen **RB1**, junto con el análisis de secuencia de la región promotora esencial y los exones que codifican el dominio del bolsillo de unión a proteínas y se detectó en 6 de 10 tumores que no expresaban **pRb**. Por el contrario, 18 de los 20 tumores y las 6 pituitarias de autopsia normales que expresaban **pRb** no estaban metiladas. La reactivación de genes supresores de tumores, silenciados mediante metilación, representa una diana terapéutica prometedora en adenomas hipofisarios esporádicos (Simpson y col., 2000).

La EC es una afección en la que la pituitaria libera una cantidad excesiva de ACTH, como resultado de un corticotropinoma secretor. Estos tumores expresan **EGFR**. Se demostró que el bloqueo de **EGFR** suprimió la expresión de la proopiomelanocortina (**POMC**), precursora de ACTH. El bloqueo de la actividad de **EGFR** con gefitinib, un inhibidor de la tirosina quinasa de **EGFR**, atenuó la expresión de **POMC**, e inhibió la proliferación de las corticotropas, con aumento de apoptosis (Fukuoka y col., 2011).

Se estudiaron las mutaciones y amplificaciones del gen **PIK3CA** en 353 tumores pituitarios, utilizando secuenciación de ADN y PCR cuantitativa en tiempo real. Se halló que un 9% de los tumores pituitarios invasivos versus 0% tumores no invasivos albergan mutaciones somáticas en los exones 9 y 20 del gen **PIK3CA**. Las amplificaciones genómicas de **PIK3CA** se observaron tanto en tumores invasivos como no invasivos, con una prevalencia de alrededor del 20-40% en varios tipos de tumores hipofisarios. También se examinaron las mutaciones de **RAS** y se encontraron en un 7% de los tumores invasores. Los datos proporcionaron una fuerte evidencia genética que respalda el rol de la vía de señalización **PI3K/AKT** en la tumorigénesis pituitaria, en especial en los tipos invasivos (Lin y col., 2009).

GADD45γ es un miembro de una familia de genes inducibles por daños en el ADN y detención del crecimiento. Se demostró que la expresión de ARNm del gen **GADD45γ** es diferente al comparar tejido pituitario humano normal y adenomas hipofisarios funcionantes. Este gen no se expresó en la mayoría de los somatotropinomas y prolactinomas. En ensayos de formación de colonias, la transfección de ADNc de **GADD45γ** humano en la línea celular derivada de tumores pituitarios humanos, dio como resultado una disminución espectacular del crecimiento celular en un 88%. Los datos indican que **GADD4** es un potente supresor del crecimiento que controla la proliferación de las células pituitarias (Zhang y col., 2002).

Una isoforma de **MEG3** derivada de la pituitaria funciona como un supresor del crecimiento en las células tumorales. El análisis genómico reveló que **MEG3** está ubicado en el cromosoma 14q32.3. Se sugiere **MEG3** puede representar un nuevo supresor del crecimiento con rol importante en el desarrollo de adenomas hipofisarios humanos (Zhang y col., 2003).

MENX es un síndrome similar a una neoplasia endocrina múltiple recesiva en la rata. El espectro tumoral en **MENX** se superpone al de las neoplasias endocrinas múltiples humanas **MEN1** y **2**. Se mapeó el locus **MenX** en la parte distal del cromosoma 4 de rata.

Se identificó una mutación en **Cdkn1b**, que codifica el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina **p27 (Kip1)**. Las ratas afectadas muestran una reducción de la proteína **p27 (Kip1)**. Los hallazgos demostraron que las mutaciones de la línea germinal en **p27 (Kip1)** pueden predisponer al desarrollo de múltiples tumores endocrinos (Pellegata y col., 2006).

Los adenomas hipofisarios humanos son las neoplasias intracraneanas más frecuentes. Un 5% de ellos son adenomas familiares que portan **mutaciones de la línea germinal** en genes de predisposición: **AIP**, **MEN1** y **PRKAR1A**. Estas mutaciones son raras en los adenomas hipofisarios esporádicos, que por lo tanto son causados por diferentes mecanismos.

Se han identificado múltiples genes supresores de tumores ligados a tumores esporádicos. Su inactivación está causada por mecanismos *epigenéticos* como la hipermetilación del promotor y se puede clasificar en dos grupos en función de su interacción funcional con los supresores de tumores **RB** o **p53**:

El grupo RB incluye: CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, RB1, BMP4, CDH1, CDH13, GADD45B y GADD45G. Los genes AIP y MEN1 también pertenecen a este grupo.

El grupo p53 incluye: MEG3, MGMT, PLAGL1, RASSF1, RASSF3 y SOCS1. La función de supresión tumoral de estos genes estaría mediada por las vías RB y p53 (Zhou y col., 2014) (fig. 7.25).

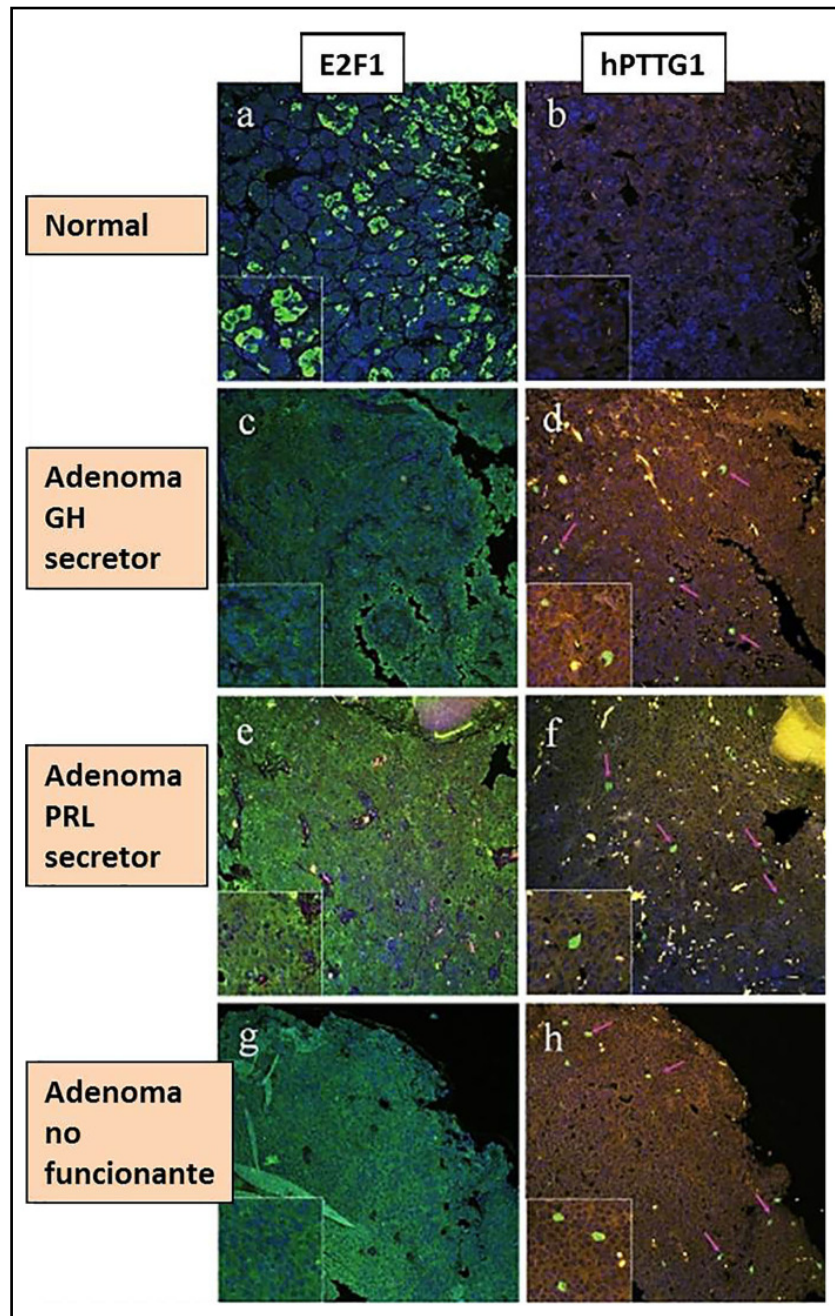


Fig. 7.25 Inmunorreactividad de E2F1 y hPTTG1 en tumores pituitarios humanos (Zhou y col., 2014).

a-b. Tejido pituitario normal: tinción de **E2F** baja y reactividad de **hPTTG1** negativa. **c-h.** Alta expresión de **E2F1** y **hPTTG1** en un tumor hipofisario no funcionante, secretor de PRL y GH. Flechas rosadas: células teñidas con **hPTTG1** positivas. Señal verde: tinción **E2F1** o **hPTTG1**; señal azul: nuclear DAPI; señal amarilla: autofluorescencia.

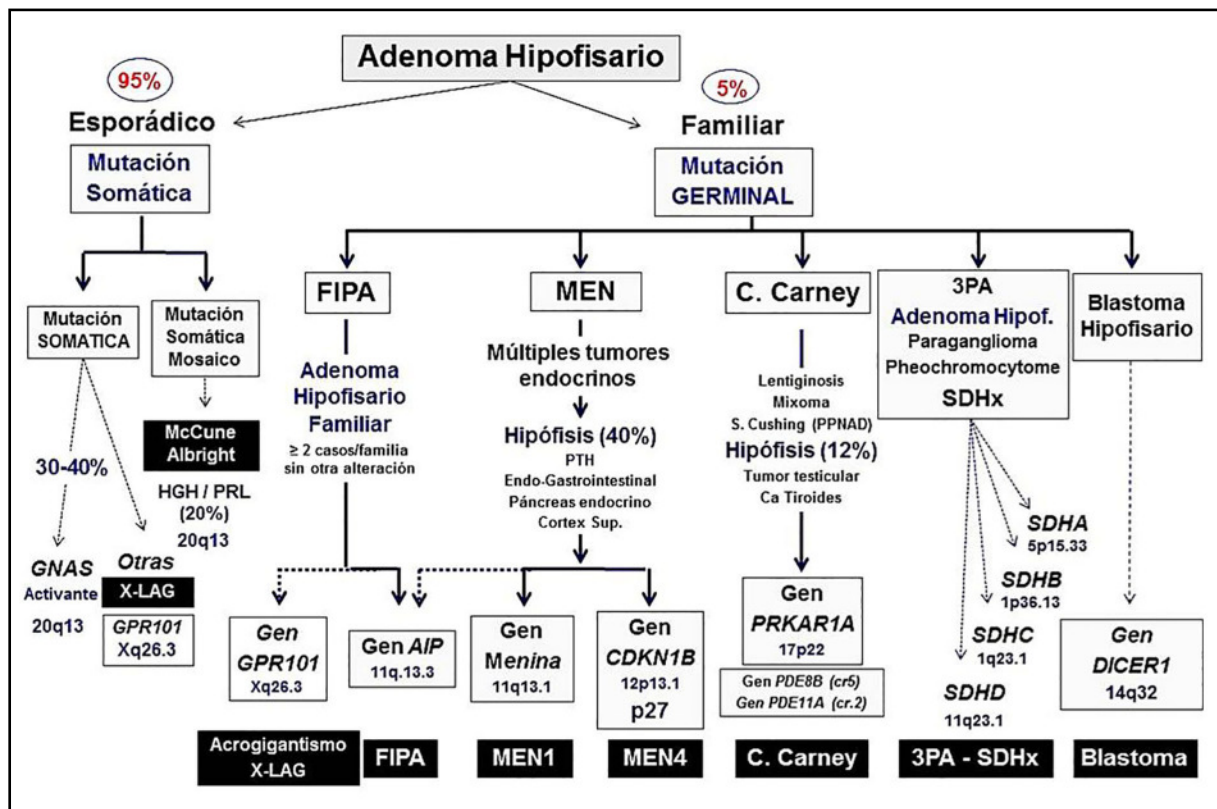


Fig. 7.26 Bases genéticas de los adenomas hipofisarios (endocrinologiapediatrica.org)

En la fig. 7.27 se presenta el estudio genético de los adenomas familiares.

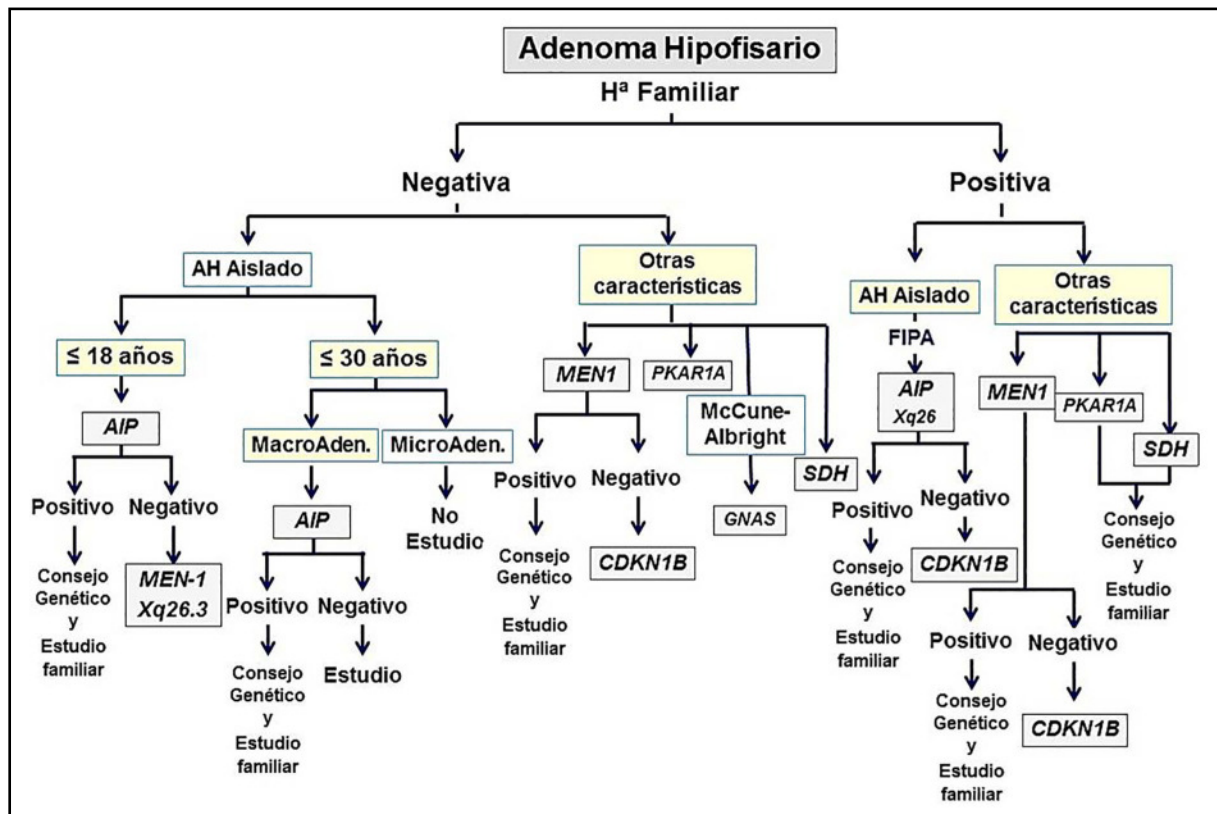


Fig. 7.27 Estudio genético de los adenomas hipofisarios (endocrinologiapediatrica.org)

Cuadro 7.2 Síntesis de los genes en las endocrinopatías.

Síndrome familiar	Gen afectado (línea germinal)
Neoplasia endocrina múltiple tipo 1	MEN1, CDKN1B, CDKN2C
Neoplasia endocrina múltiple tipo 4	CDKN1B
Neoplasia endocrina múltiple tipo 2	RET
3PA (feocromoc., paragangl., adenoma pituitario)	RET
Adenomas hipofisarios familiares aislados (FIPA)	AIP
Complejo de Carney	PRKAR1A
McCune-Albright	GNAS
Prolactinoma	HMGA2
Corticotropinoma	USP8, USP48, BRAF
Somatotropinoma	GNAS
Acromegalia	Gsp, PTTG
Gigantismo	AIP
Acrogigantismo	GPR101
Enanismo: acondroplasia	FGFR3
Diabetes insípida (DI)	AVP
Cushing esporádico	USP8, GNAS, RASD1

Referencias

- Albani A et al. Genética de la enfermedad de Cushing. *Clin Endocrinol* 88(1):3-12, 2018.
- Alencar GA et al. Las mutaciones ARMC5 son una causa frecuente de hiperplasia suprarrenal macronodular primaria. *J Clin Endocrinol Metab* 99(8):E1501-9, 2014.
- Assié G. Conocimientos genómicos sobre el síndrome de Cushing. *Ann Endocrinol (París)* 79(3):119-122, 2018.
- Beckers A. et al. Las causas y consecuencias del gigantismo hipofisario. *Nat Rev Endocrinol* 14(12):705-720, 2018.
- Bellus GA et al. Una mutación recurrente en el dominio tirosina quinasa del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos causa hipocondroplasia. *Nat Genet* 10(3):357-9, 1995.
- Bichet DG. Genética y diagnóstico de diabetes insípida central. *Ann Endocrinol (París)* 73(2):117-27, 2012.
- Bogusławska A, Korbonits M. Genética de la acromegalia y el gigantismo. *J Clin Med* 10(7): 1377, 2021.
- Buonocore F, Achermann JC. Insuficiencia suprarrenal primaria: nuevas causas genéticas y sus consecuencias a largo plazo. *Clin Endocrinol* 92(1):11-20, 2020.
- Chien WM y col. Los mosaicos genéticos revelan la función tanto autónoma como no autónoma de la p27Kip1 murina. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 4122– 4127, 2006.
- Counter CM et al. Shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *Embo J* 11:1921-1929, 1992.
- D'Angelo D et al. Perfil de expresión de microARN alterado en adenomas de GH pituitarios humanos: regulación por disminución de miARN dirigido a HMGA1, HMGA2 y E2F1. *J Clin Endocrinol Metab* 97:E1128-1138, 2012.
- Ezquieta Zubizaray B et al. Mutaciones Gly380Arg y Asn540Lys del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos en acondroplasia e hipocondroplasia en población española. *Med Clin (Barc)* 112(8):290-3, 1999.
- Freda PU et al. Análisis de mutaciones GNAS en 60 tumores hipofisarios secretores de hormona del crecimiento: correlación con características clínicas y patológicas y resultado quirúrgico basado en criterios de GH e IGF-I altamente sensibles para la remisión. *Pituitaria* 10:275-282, 2007.
- Fukuoka H et al. EGFR como diana terapéutica para adenomas pituitarios secretores de ACTH humanos, caninos y de ratón. *J Clin Invest* 121:4712- 4721, 2011.
- Gergics P. Mutaciones del factor de transcripción hipofisario que conducen al hipopituitarismo. *Exp Suppl* 111:263-298, 2019.
- Gregory LC et al. Las mutaciones en MAGEL2 y L1CAM se asocian con hipopituitarismo congénito y artrogriposis. *J Clin Endocrinol Metab* 104(12):5737-5750, 2019.
- Hannah-Shmouni F et al. Genética de gigantismo y acromegalia. *GH IGF Res* 30-31:37-41, 2016.
- Hernández-Ramírez LC, Stratakis CA. Genética del síndrome de Cushing. *Endocrinol Metab Clin North Am* 47(2):275-297, 2018.
- Iacovazzo D et al. La duplicación de la línea germinal o somática de GPR101 conduce al acrogigantismo ligado al cromosoma X: un estudio clínico-patológico y genético. *Acta Neuropathol Commun* 4(1):56, 2016.
- Jacks T, Fazeli A, Schmitt EM, Bronson RT, Goodell MA, Weinberg RA: Efectos de una mutación Rb en el ratón. *Nature* 359: 295–300, 1992.
- Kamilaris CD et al. Complejo de Carney. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 127(2-03):156-164, 2019.
- Kelberman D, Dattani MT. Rarezas del hipopituitarismo: causas congénitas. *Horm Res* 68 Supl. 5:138-44, 2007.
- Kirschner LS et al. Mutaciones del gen que codifica la subunidad reguladora de la proteína quinasa A tipo I-alfa en pacientes con el complejo de Carney. *Nat Genet* 26:89-92, 2000.

- Knudsen ES, Knudsen KE: Adaptación a RB: estado supresor de tumores y respuesta terapéutica. *Nat Rev Cancer* 8: 714–724, 2008. Kouzarides T: Modificaciones de cromatina y su función. *Cell* 128: 693-705, 2007.
- Lazzerini Denchi E y col., La actividad desregulada de E2F induce hiperplasia y características similares a la senescencia en la glándula pituitaria del ratón. *Mol Cell Biol* 25: 2660-2672, 2005.
- Lin Y et al. Mutaciones frecuentes y amplificaciones del gen PIK3CA en tumores pituitarios. *Endocr Relat Cancer* 16:301-310, 2009.
- Mancilla EE et al. Mutaciones en el gen receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR3) en pacientes chilenos con talla baja idiopática, hipocondroplasia y acondroplasia. *Rev Med Chil* 131(12): 1405-10, 2003.
- McKusick V. Mendelian inheritance in man. 11a ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1994.
- Nakayama K y col. Los ratones que carecen de p27 (Kip1) muestran un tamaño corporal aumentado, hiperplasia de múltiples órganos, displasia de retina y tumores pituitarios. *Cell* 85: 707–720, 1996.
- O'Connor C. Cytogeneticists can now go “FISH-ing” for chromosomal abnormalities, which are deletions and duplications that can cause disease. How exactly does FISH work? Fluorescence in situ hybridization (FISH). *Nature Education* 1:171, 2008.
- Ornitz DM, Legeai-Mallet L. Acondroplasia: desarrollo, patogenia y terapia. *Dev Dyn* 246(4):291-309, 2017.
- Parks JS Hipopituitarismo congénito. *Clin Perinatol* 45(1):75-91, 2018.
- Pellegata NS y col. Las mutaciones de la línea germinal en p27Kip1 causan un síndrome de neoplasia endocrina múltiple en ratas y humanos. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 15558– 15563, 2006.
- Pérez-Rivas LG et al. El gen de la proteasa 8 específica de ubiquitina se muta con frecuencia en los adenomas que causan la enfermedad de Cushing. *Clin Endocrinol Metab* 100(7):E997-1004, 2015.
- Peralta-Leal V et al. Mutaciones en el gen de la arginina vasopresina neurofisina-II en pacientes con diabetes insípida neurohipofisaria familiar. *Rev Invest Clin* 60(3):255-62, 2008.
- Pérez-Rivas LG, Reincke M. Genética de la enfermedad de Cushing: una actualización. *J Endocrinol Invest* 39(1):29-35, 2016.
- Quevedo Wanichi I et al. Enfermedad de Cushing por mutaciones somáticas de la USP8: revisión sistemática y metanálisis. *Pituitaria* 22(4):435-442, 2019.
- Ravikumar A, Levine AC. Base genética de la hiperplasia macronodular bilateral. *Pract endocr* 21(4):390-4, 2015.
- Rooney DE, Czepulkowski BH (eds.) *Human Cytogenetics. A practical approach. Vol. I-II.* Oxford: Oxford University Press, 1992.
- Rostomyan L et al. Mutaciones de AIP y gigantismo. *Ann Endocrinol (París)* 78(2):123-130, 2017.
- Rostomyan L et al. Caracterización clínica y genética del gigantismo hipofisario: un estudio colaborativo internacional en 208 pacientes. *Cancer Endocr Relat* 22(5):745-57, 2015.
- Rostomyan L, Beckers A. Detección de causas genéticas de la hipersecreción de la hormona del crecimiento. *GH IGF Res*:30-31:52-57, 2016.
- Schernthaner-Reiter MH et al. Genética de la diabetes insípida. *Endocrinol Metab Clin North Am* 46(2):305-334, 2017.
- Sesta A et al. Los adenomas corticotropos mutantes de la proteasa 8 específica de ubiquitina presentan características secretoras y moleculares únicas y arrojan luz sobre el papel de la ubiquitilación en el procesamiento de ACTH. *Neuroendocrinología* 110(1-2):119-129, 2020.
- Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M (eds.). *ISCN An International System for Human Cytogenetic Nomenclature.* Basel: S Karger, 2013.
- Simpson DJ y col. La pérdida de expresión de pRb en los adenomas hipofisarios se asocia con la metilación de la isla RB1 CpG. *Cancer Res* 60: 1211-1216, 2000.
- Spieß M et al. Formas genéticas de diabetes insípida neurohipofisaria. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 34(5):101432, 2020.

- Tatsi C et al. Síndrome de Cushing: genes nuevos y antiguos. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 34(2):101418, 2020.
- Theodoropoulou M et al. Decodificación de la base genética de la enfermedad de Cushing: USP8 en un centro de atención. *Eur J Endocrinol* 173(4):M73-83, 2015.
- Toledo RA et al. Mutación de la línea germinal en el gen de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburo de arilo en el somatotropinoma familiar. *J Clin Endocrinol Metab* 92(5):1934-7, 2007.
- Turkkahraman D et al. Mutaciones del gen AVP-NPII y características clínicas de los pacientes con diabetes insípida central familiar autosómica dominante. *Pituitaria* 18(6):898-904, 2015.
- Wang H et al. Skp2 es necesaria para la supervivencia de células deficientes en Rb1 que proliferan de forma aberrante y para la tumorigénesis en Rb1 + / - ratones. *Nat Genet* 42: 83-88, 2010.
- Xatzipsalti M et al. Hipopituitarismo congénito: varios genes, varios fenotipos. *Horm Metab Res* 51(2):81-90, 2019.
- Xiong Q, Ge W. Mutaciones genéticas en la enfermedad de Cushing. *Representante biomédico* 5(3):277-282, 2016.
- Zhang X et al. Pérdida de expresión de GADD45 gamma, un gen inhibidor del crecimiento, en adenomas pituitarios humanos: implicaciones para la tumorigénesis. *J Clin Endocrinol Metab* 87:1262-1267, 2002.
- Zhang X et al. Una isoforma de MEG3 derivada de la pituitaria funciona como un supresor del crecimiento en las células tumorales. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5119-5126, 2003.
- Zhou Y y col. Mutaciones genéticas y epigenéticas de genes supresores de tumores en el adenoma hipofisario esporádico. *Mol Cell Endocrinol* 386: 16-33, 2014.

CAPÍTULO 8

EPIGENÉTICA DE LOS TUMORES HIPOFISARIOS

8.1 Epigenética (del griego *epi*: sobre; *genética*).

Se refiere a ciertos cambios en el material genético, que no afectan la secuencia de los genes, y que pueden ser originados por señales externas. Los **factores epigenéticos**, *determinados por el ambiente celular y no por la herencia*, regulan procesos modificadores de la *actividad del ADN*, sin alterar la secuencia de nucleótidos. El término fue acuñado por Conrad Waddington (1942) al analizar las interacciones entre genes y ambiente.

Epigenoma: está constituido por *señales químicas que regulan la actividad de los genes*. Se creía que los genes eran inamovibles pero la figura del **epigenoma** cambia esta creencia. Los genes pueden estar desregulados cambiando su *activación o inactivación*. El gen está **encendido o apagado** y esto se produce debido a los grupos químicos que se añaden al gen para activarlo o apagarlo. La Epigenética es capaz de explicar que personas que tiene el mismo ADN, como los gemelos, tengan enfermedades distintas. ¿Por qué? *Porque hay un solo genoma y muchos epigenomas*.

Las moléculas en las regiones del **genoma** denominadas **codificantes** determinan la naturaleza química de las proteínas que son codificadas. En las regiones del genoma denominadas **reguladoras** el orden de las bases nitrogenadas define con precisión la maquinaria celular que va a reconocer y procesar esta información. Para ser funcionales las moléculas de ADN deben someterse al **proceso de transcripción** por el que son copiadas fielmente a otra molécula con una naturaleza química similar, el ácido ribonucleico (ARN).

8.2 Mecanismos epigenéticos

Comprenden las modificaciones postraduccionales de las histonas mediante acetilación, metilación y fosforilación, así como la metilación del ADN (**fig.8.1**).

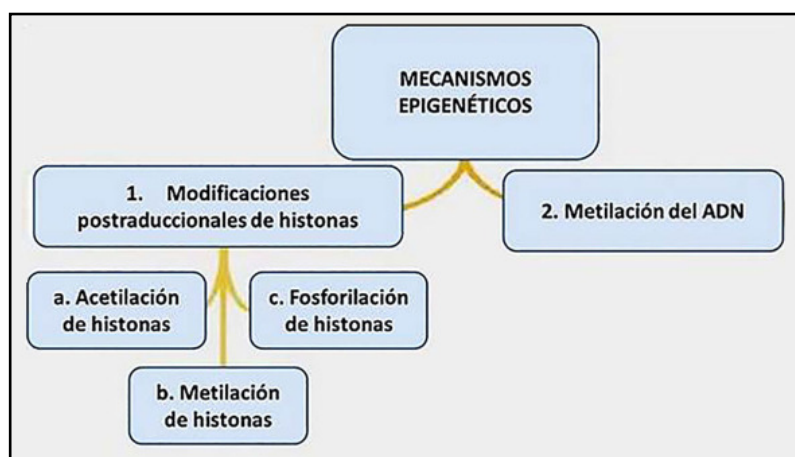


Fig. 8.1 Mecanismos epigenéticos (scielo.com).

La **fig. 8.2** presenta la influencia de la epigenética a través de la vida:

- Antes de la concepción.
- Período fetal (exposición en el útero).
- Niñez.
- Aduldez.
- Vejez.

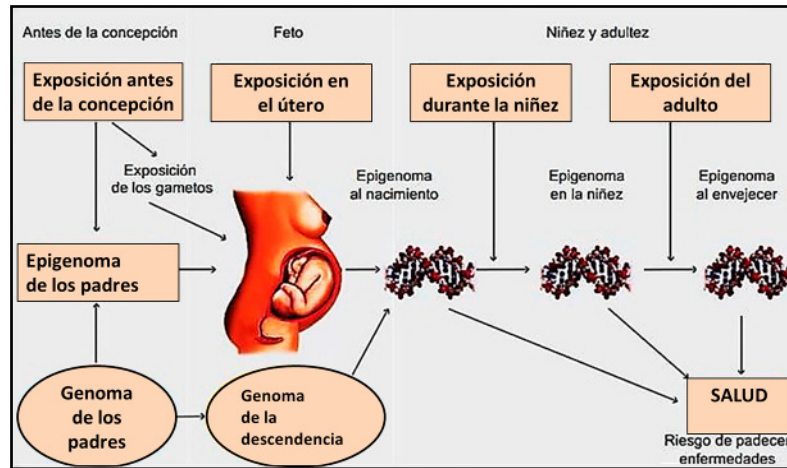


Fig. 8.2 Epigenética a través de la vida (web).

8.2.1 Metilación del ADN

Es la principal modificación epigenética del genoma. En los seres humanos el ADN se metila en las citosinas que estén unidas a guaninas a través de un enlace fosfato: en dinucleótidos citosina-fosfato-guanina o **CpG**. La adición del grupo metilo a la citosina forma el nucleótido 5-metil-citosina, reacción que es catalizada por un grupo de enzimas conocidas como *ADN metiltransferasas (DNMT)*. La mayor parte del genoma se concentra en las denominadas islas **CpG**, situadas en las regiones reguladoras de los genes, posicionadas en el extremo 5'. La reacción de metilación del ADN involucra la transferencia del grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina al carbono 5 de la citosina. Se han identificado 3 enzimas diferentes que llevan a cabo esta reacción: las DNMT de mantenimiento (DNMT-1) y las metilasas *de novo* (DNMT-3A y DNMT-3B) (**fig. 8.3**).

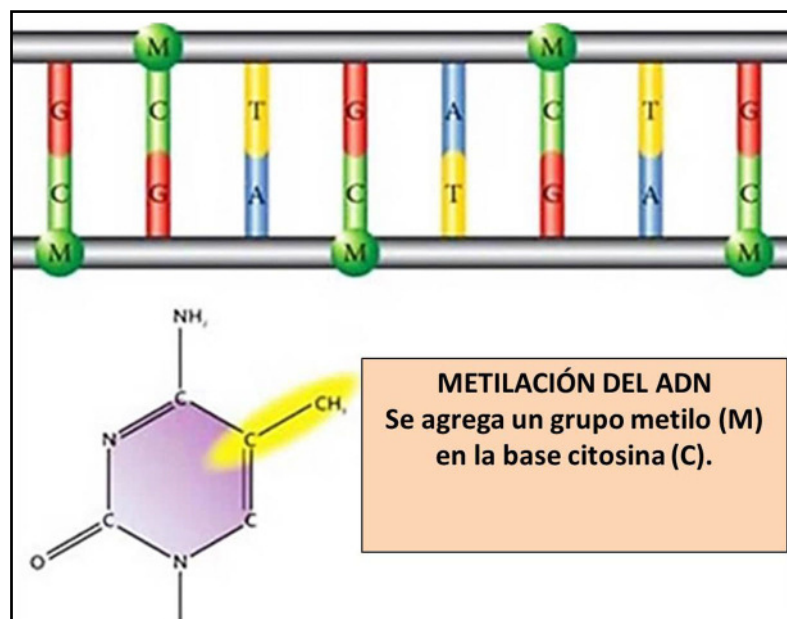


Fig. 8.3 Metilación del ADN (Ciber Genética).

a. Hipermetilación: se asocia con el *silenciamiento de los genes*. Se produce en genes individuales y en las islas CpG de los genes constitutivos y en los genes supresores tumorales. Una forma de controlar el grado de metilación es por medio de efectos ambientales. En los mamíferos se ha visto que la metionina, la colina, el ácido fólico y las piridoxinas provenientes de la dieta, tienen como función el agregado de grupos metilos. Si hay *hipermetilación* en los genes reguladores del ciclo celular que reparan el ADN, se produce una mayor frecuencia de tumores. Cuando una secuencia CpG adquiere metilación, dicha *modificación se hace estable y es heredada como patrón*.

b. Hipometilación: conduce a una inestabilidad genómica e *incrementa los eventos de recombinación mitótica*. La *hipometilación* se relaciona con la *sobreexpresión de ciertas proteínas en los procesos de invasión y metástasis*. Se asocia a procesos neoplásicos.

8.2.2 Modificación postraducciona de las histonas

La cromatina está formada por una unidad básica: el nucleosoma, conformado por histonas (H2A, H2B, H3 y H4) unidas a proteínas no histónicas. El ADN se enrolla en el nucleosoma. Las histonas octaméricas forman el centro de esta unidad funcional. Están compuestas por un dominio globular y un dominio N terminal, flexible, conocido como *cola de histonas*, que protruyen fuera del nucleosoma. Ambos dominios son dianas para las modificaciones químicas que alteran la naturaleza del nucleosoma que abre o cierra a la cromatina para realizar la transcripción (**fig. 8.4**).

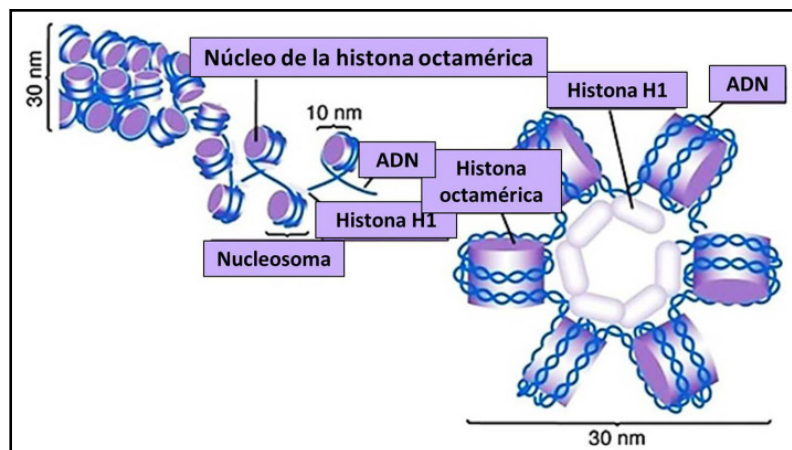


Fig. 8.4 Histonas octaméricas (es.quora.com).

Diferentes combinaciones de modificaciones covalentes y no covalentes de las histonas pueden leerse como un código, lo cual se conoce como el *código de histonas*. Estas modificaciones son reguladas por grupos de diferentes enzimas que pueden añadir grupos químicos a las histonas (marcadores) o eliminar grupos químicos (borradores). Se han encontrado al menos ocho tipos de modificaciones postraduccionales en las histonas. Las colas de las histonas pueden sufrir *acetilación, metilación, fosforilación, poli-ADP, ribosilación, ubiquitinación y glucosilación*. Las modificaciones de las histonas funcionan mediante dos mecanismos básicos:

8.2.3 Metilación de las histonas

Se vincula tanto a *activación como a represión transcripcional*. Las colas de las histonas pueden ser metiladas en múltiples residuos de arginina y lisina. La metilación es catalizada por *metiltrans-*

ferasas. Mecanismos epigenéticos → metilación del ADN → genes activos o inactivos: tallos de histonas (fig. 8.5).

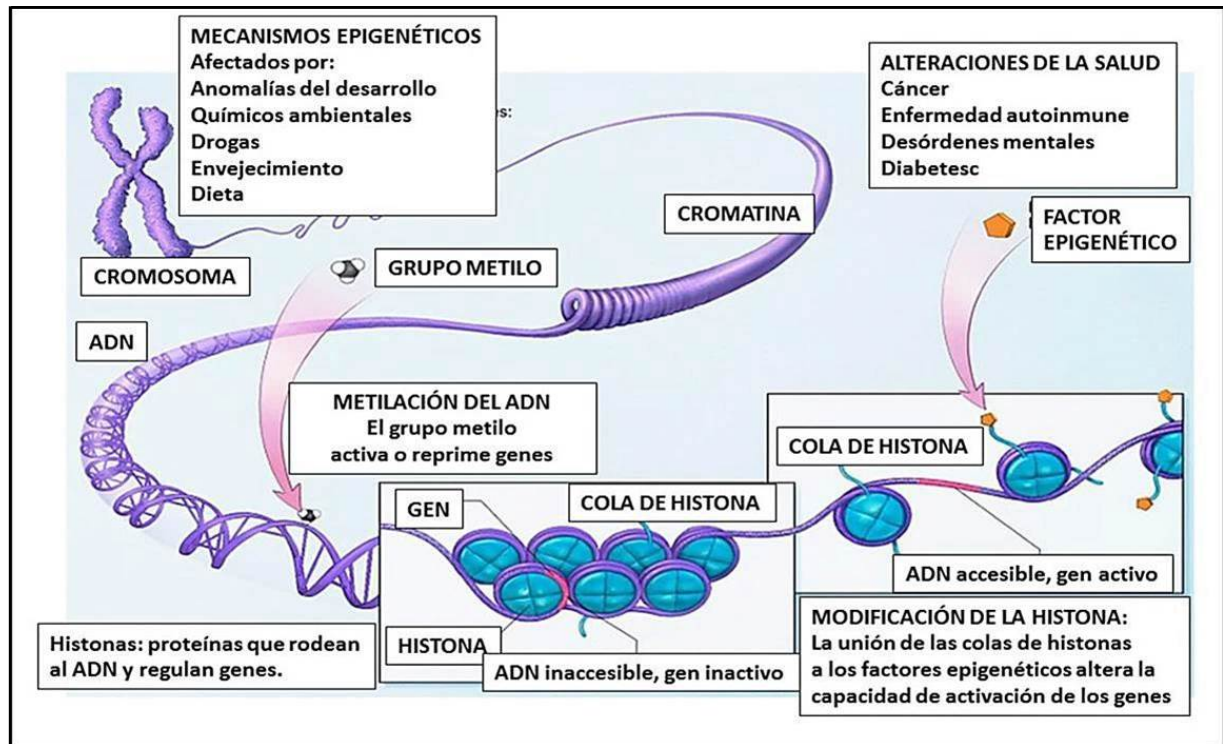


Fig. 8.5 Metilación de las colas de histonas (Empyria).

8.2.4 Acetilación de las histonas

Es catalizada por las *acetiltransferasas de histonas* (HAT) y la *desacetilasa de histonas* (HDAC). Ocurre en los residuos de lisina de las histonas H3 y H4. El sustrato de acetilación es la acetil-CoA que confiere a la cromatina una conformación más accesible en el aspecto transcripcional. Activadores de acetilación: glucosa y etanol; inhibidores: ácido anacárdico de las nueces y curcumina. Activadores de desacetilación: teofilina y dietas hipocalóricas; inhibidores: apio, vitamina E, hiperglucemia. La acetilación de histonas produce alteración de la unión histona-ADN. La acetilación posee un efecto activador de la transcripción; los nucleosomas se empaquetan con menos eficiencia, lo que permite que el ADN sea más accesible a proteínas reguladoras (fig. 8.6).

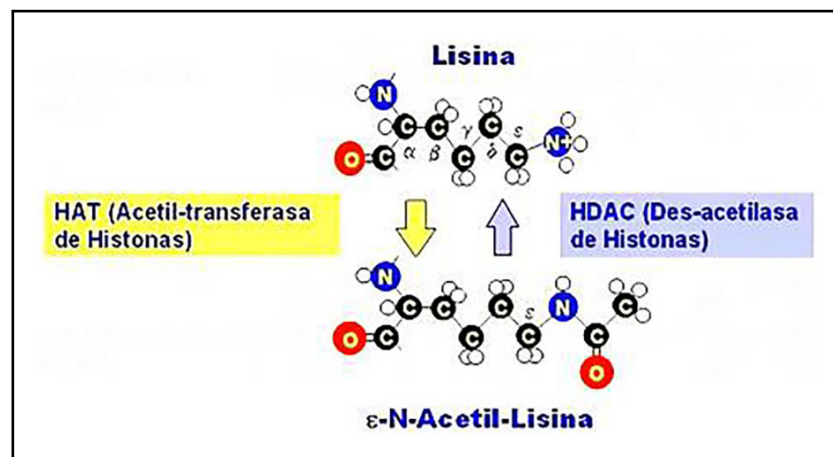


Fig. 8.6 Acetilación de histonas (Villaverde, FJ).

8.2.5 Silenciamiento génico

Es mediado por ARN no codificante: los microARN son pequeños ARN (18-25 nucleótidos) endógenos, no codificadores de proteínas, que impiden la expresión de un determinado gen. Esto lo logran bloqueando la traducción (mecanismo antisentido) o mediando la degradación de ARNm específicos que tienen una secuencia complementaria al microARN. Desde el punto de vista epigenético, no solo tienen la capacidad de regular la expresión génica, sino que también pueden remodelar la cromatina al modificar el patrón de metilación de una secuencia específica, viéndose involucrados en la formación de heterocromatina.

Los **microARN** pueden actuar como supresores de tumores o como oncogenes. Los *mecanismos epigenéticos* están interrelacionados y trabajan a niveles distintos de la organización genética, pero todos dan como resultado un conjunto de modificaciones relevantes de la estructura cromatínica. Así pues, la modificación de una histona puede llevar a la metilación del ADN; esta, a su vez, contribuye a una mayor compactación del ADN sobre las histonas, y se crea así una cromatina más cerrada. Esta región será menos accesible a la maquinaria de transcripción, por lo que el gen se silencia y no se codifica su producto. Cuando el gen está apagado, metilado, reprimido, no se transcribirá su información genética. Es interesante considerar que este proceso puede ser *reversible*, por lo que un gen que se encuentra apagado puede activarse nuevamente.

Las marcas epigenéticas cumplen un papel clave en el desarrollo del embrión. Casi todas las células de un organismo tienen el mismo genoma, pero los genes que se expresen serán diferentes en las distintas etapas del desarrollo. Durante el desarrollo embrionario se producen *oleadas de metilación y desmetilación*, es decir, de *encendido y apagado de genes*. Las células totipotenciales, que pueden dar lugar a cualquier tejido del organismo, tienen una cromatina muy permisiva y, a medida que la célula se va diferenciando, se establecen diferentes marcas en la cromatina que la hacen más o menos permisiva según el tipo de tejido.

8.3 Epigenética de los tumores hipofisarios

Además de la información genética codificada por el ADN, la información hereditaria también se puede transmitir sin depender de cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN, un fenómeno conocido como **epigenética**. La expresión génica en eucariotas está regulada en parte por mecanismos epigenéticos a nivel del ADN y de las histonas.

La metilación del ADN, la modificación de las histonas, la remodelación de los nucleosomas y el direccionamiento mediado por el ARN regulan muchos procesos biológicos que son fundamentales para la génesis del cáncer. La mala regulación de las vías epigenéticas puede culminar en cáncer. Se están creando fármacos epigenéticos con prometedores resultados clínicos y preclínicos contra los reguladores de la cromatina (Dawson y Kouzarides, 2012).

Las drogas antitumorales que cambian las *marcas epigenéticas* inhiben las enzimas que quitan los grupos acetilos, es decir, favorecen la acetilación. El problema es que esas drogas afectan a todo el genoma, no se dirigen a un tejido en particular, ni a un gen específico y pueden modificar la acetilación en todos los genes. Además, se descubrió que ciertos cambios químicos dentro del gen ayudan al paso posterior de la transcripción, que es el procesamiento del ADN. Por ejemplo, hay marcas que contribuyen al proceso denominado *splicing alternativo*, que consiste en el cortado y rearmado de los segmentos que conforman un gen de modo de que pueda dar lugar a proteínas diferentes. Si estos cambios fueran heredables, permitirían que no sólo el propio individuo sino también su descendiente directo pueda adaptarse mejor y más rápido al entorno. La técnica de inmunoprecipitación de cromatina permite detectar las modificaciones epigenéticas. Se utiliza un anticuerpo que reconoce a una histona con una modificación y es posible identificar ese cambio químico en todas las regiones del genoma.

En la mayoría de las neoplasias humanas, la pérdida hereditaria de la función genética a través de la división celular puede estar mediada tanto por *anomalías epigenéticas* como por *anomalías genéticas*. La modificación epigenética se produce a través de un proceso de cambios interrelacionados en la *metilación de las islas CpG* y las *modificaciones de las histonas*. Los enfoques de genes candidatos del ciclo celular, genes reguladores del crecimiento y apoptóticos han mostrado una modificación epigenética asociada con la pérdida de proteínas afines en tumores hipofisarios esporádicos. La búsqueda de genes nuevos sobre la base de su metilación diferencial ha llevado al aislamiento y caracterización funcional de un mediador proapoptótico: un *gen de apoptosis tumoral pituitaria (PTAG)*. Además, el gen **GNAS** está impreso en la hipófisis normal y las mutaciones activadoras dentro de **Gsa**, denominadas oncogén **gsp**, se asocian con el alelo materno expresado en los somatotropinomas (Farrell, 2005).

La *acetilación de las histonas* y la *metilación del ADN* son modificaciones **epigenéticas** cuyos patrones pueden considerarse marcas hereditarias que garantizan la transmisión precisa de los estados de cromatina y los perfiles de expresión génica. La evidencia sugiere que la interacción entre la metilación del ADN y la acetilación de histonas, puede estar involucrada en el proceso de transcripción de genes y silenciamiento de genes aberrantes en tumores (Vaissière y col., 2008).

Se investigó el patrón de acetilación de la histona 3 lisina 9 (**H3K9**), un marcador epigenético del estado de la cromatina activa y la transcripción de genes, en los adenomas hipofisarios típicos-atípicos y en la hipófisis normal. Se observó aumento significativo en la acetilación de **H3K9** desde la hipófisis normal hasta los adenomas hipofisarios típicos y atípicos, que se asoció con una *hiperacetilación* de **H3K9** en adenomas atípicos. La sobreexpresión de **Ki-67** también se asoció en gran medida con un aumento de la acetilación de **H3K9**. La sobreexpresión de **p53** tuvo un efecto que contribuyó a la acetilación global de **H3K9** alterada de los adenomas hipofisarios atípicos. Estos datos sugieren que el estado de acetilación de **H3K9** podría servir como un biomarcador relevante de la gravedad del tumor en los adenomas hipofisarios (Ebrahimi y col., 2011).

La estructura de la cromatina puede verse influida por diversas modificaciones, incluidos los procesos postraduccionales reversibles de acetilación y desacetilación de proteínas de unión al ADN. Se hace referencia a la **histona acetil transferasa (HAT)** como el autora de este proceso, mientras que la **histona desacetilasa (HDAC)** es el borrador de esta modificación de lisina. La desregulación de la expresión génica y los cambios en el perfil de expresión de **HDAC** se han asociado con tumorigénesis. Estos inhibidores pueden influir en los procesos epigenéticos al dirigirse a la actividad de **HDAC**, aumentar el estado de acetilación de histonas nucleares y contribuir a la remodelación de la cromatina, lo que afecta la expresión génica. Las **HDAC** también actúan sobre una gran cantidad de proteínas citosólicas con muchas funciones celulares como la angiogénesis, las respuestas inmunitarias y la autofagia (Olzscha y col., 2015).

Se comunicó un silenciamiento epigenético a través del *ADN* y la *metilación de histonas* del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (**FGF**) en células neoplásicas de la pituitaria. El examen de los adenomas pituitarios humanos primarios reveló una regulación a la baja de **FGFR2** en un 52% y la metilación del ADN del promotor de **FGFR2** en un 45%. Estos datos destacan la contribución de la metilación del ADN y las histonas como **mecanismos epigenéticos** responsables del silenciamiento del **FGFR2** en las neoplasias hipofisarias (Zhu y col., 2007).

El reclutamiento de **MeCP2** a dinucleótidos **CpG metilados** representa un mecanismo principal por el cual la metilación del ADN puede reprimir la transcripción. **MeCP2** silencia la expresión génica en parte al reclutar la actividad de la histona desacetilasa (**HDAC**), lo que da como resultado la remodelación de la cromatina. Se demostró que **MeCP2** se asocia con la actividad de la *histona metiltransferasa in vivo* y que esta actividad está dirigida contra Lys de la histona H3. Se demostró que la presencia de **MeCP2** en nucleosomas dentro de la región represora del gen **H19** coincide con un aumento en la metilación de H3 Lys. Los datos evidencian que **MeCP2** refuerza un estado represivo de la cromatina al actuar como un puente entre dos modificaciones epigenéticas globales, la metilación del ADN y la metilación de histonas (Fuks y col., 2003).

El gen *neuronatina* (NNAT), es una de las transcripciones más abundantes en la pituitaria y se cree que participa en el desarrollo y maduración de la glándula. En un enfoque reciente de genoma completo, aprovechando una línea de células tumorales pituitarias, identificamos la pérdida de NNAT asociada a la hipermetilación. Sin embargo, 33 de los 47 adenomas que comprenden 11 somatotropinomas, 10 prolactinomas, 12 corticotropinomas y 14 adenomas no funcionantes, no lograron expresar ni el transcrito ni la proteína NNAT. La mayoría de los adenomas mostraron pérdida o una reducción significativa de la expresión de NNAT, en relación con las pituitarias normales. El silenciamiento de RASSF3 por hipermetilación del ADN se asocia con tumorigénesis en somatotropinomas (Revill y col., 2009).

La *citrulinación de histonas* reprime la expresión de **miARN** dando como resultado un aumento de **ARNm de oncogén** en células somatolactotropas. Las enzimas peptidilarginina deiminasa (**PAD**) convierten los residuos de histona arginina en citrulina para modular la organización de la cromatina y la expresión génica. Las histonas PAD2, PAD 4 y las citrulinadas son más altas en prolactinomas y somatoprolactinomas. Los estudios demostraron que la expresión de **microARN (miARN) let-7c-2, 23b y 29c** se suprime mediante *citrulinación de histonas*. Dichos miARN se dirigen directamente al ARNm de los oncogenes que codifican **HMGA**, factor de crecimiento similar al IGF-1 y N-MYC, que están muy implicados en la patogénesis del prolactinoma/somatoprolactinoma humano (DeVore y col., 2018) (figs. 8.7-8.8).

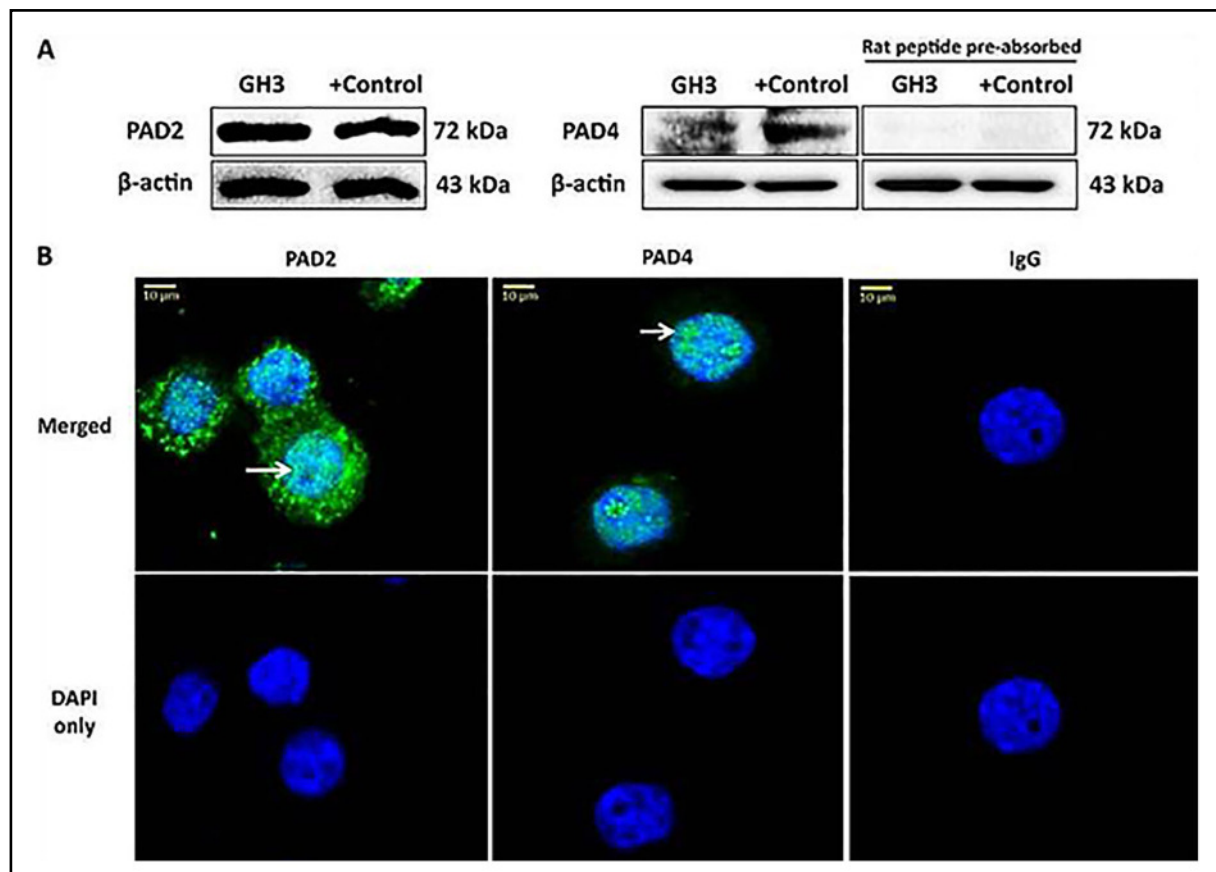


Fig. 8.7 PAD2 y PAD4 se localizan en el núcleo y las histonas citrulinato en la línea celular GH3 derivada del somatolactotropo (DeVore, 2018).

A. Las células GH3 se lisaron y se sometieron a transferencia Western usando anticuerpos anti-PAD2/anti-PAD4. Para generar controles positivos, las células GH3 se transfectaron con un plásmido de expresión **PAD2** o **PAD4** durante 24 hs. **B.** Las células GH3 se fijaron y examinaron por ICC usando anticuerpos anti-PAD2/anti-PAD4 y se tiñeron con DAPI (azul). Las flechas indican tinción con PAD nuclear.

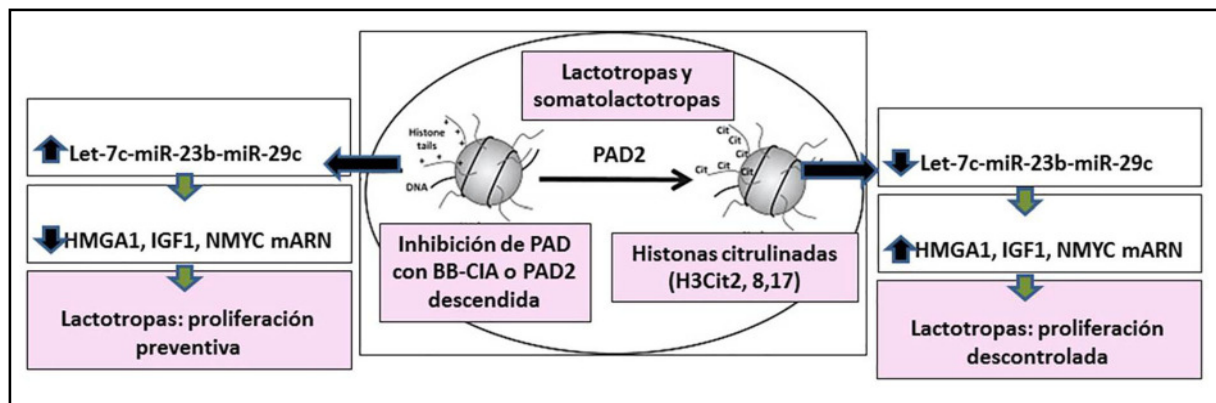


Fig. 8.8 Citrulinación de histonas catalizada por PAD en la proliferación de lactotropas y somatolactotropas (DeVore 2018).

El **hPTTG** sirve como marcador para la clasificación de malignidad en varias neoplasias y está involucrado en múltiples vías celulares que incluyen transformación celular, apoptosis, reparación del ADN, inestabilidad genómica, control mitótico e inducción de angiogénesis. Se halló que la sobreexpresión de histona acetiltransferasa (**HAT**)**p300** permite la regulación del **hPTTG** en los niveles de actividad promotora, ARNm y expresión de proteínas. Dicha sobreexpresión de **p300** elevó el nivel de acetilación de histona **H3** en el promotor **hPTTG**. Estos datos implican un papel importante de la modificación de la acetilación de histonas en la regulación de **hPTTG** (Li y col., 2009).

La desoxirribonucleasa metiltransferasa 3B (**DNMT3b**) promueve el silenciamiento epigenético a través de modificaciones de la cromatina de la histona 3 en las células pituitarias. A través de la inhibición de la metilación farmacológica o la inhibición de la desacetilación de histonas, se identificó que la expresión del gen **DNMT3b** está sujeta a modificaciones de histonas. La regulación a la baja de **DNMT3b** dio como resultado la inducción de **p21** y **p27** y la reducción de la proliferación celular. Estos efectos específicos se asociaron con un aumento de la acetilación de la histona 3 y una disminución de la metilación de las histonas (Zhu y col, 2008).

La ADN metiltransferasa (**DNMT1**) es responsable de la metilación de citosina en mamíferos y tiene un papel en el silenciamiento de genes. La metilación del ADN reprime los genes en parte mediante el reclutamiento de la proteína de unión a metil-CpG **MeCP2**, que a su vez recluta una actividad de histona desacetilasa. Se demostró que **DNMT1** está asociado con la actividad de *histona desacetilasa in vivo*. De acuerdo con esta asociación, encontramos que una de las histonas desacetilasas conocidas, la **HDAC1**, tiene la capacidad de unirse a **DNMT1** y puede purificar la actividad metiltransferasa de extractos nucleares. Los datos muestran una conexión más directa entre la metilación del ADN y la desacetilación de histonas. Se sugirió que el proceso de metilación del ADN, mediado por **DNMT1**, puede depender o generar un estado de cromatina alterado a través de la actividad histona desacetilasa (Fuks y col., 2000).

Se demostró que las metiltransferasas de ADN identificadas como **DNMT3a** y **DNMT3b**, son esenciales para la metilación *de novo* y para el desarrollo del ratón. La inactivación de ambos genes mediante la selección de genes bloquea la metilación en las células madre embrionarias. Las mutaciones de **DNMT3B** humano se encuentran en el síndrome de ICF, un defecto del desarrollo caracterizado por hipometilación de repeticiones pericentroméricas (Okano y col., 1999).

La *histona desacetilasa 11* (**HDAC11**) suprime la expresión de **p53** en células tumorales pituitarias. Las *histonas desacetilasas* (**HDAC**) interfieren con la apoptosis. Los niveles altos de **HDAC11** y los niveles más bajos de **p53** se detectaron en los tumores hipofisarios. Se detectó una correlación negativa entre **HDAC11** y **p53**. La eliminación de **HDAC11** mejoró la expresión de **p53** en las células AtT-20. Se sugiere que la inhibición de **HDAC11** tendría potencial terapéutico en el tratamiento de los tumores pituitarios (Wang y col., 2017).

La desregulación genética mediada por epigenética es una característica común asociada con la tumorigénesis pituitaria humana. Los patrones de acetilación de histonas de los adenomas hipofisarios

típicos y atípicos indican un cambio epigenético de estos tumores. Se utilizó el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (**FGFR2**) como modelo a través del cual el sistema de antígeno asociado al melanoma regulador de **p53** (**MAGE**) gobierna en las células pituitarias (Ezzat, 2008).

La *hipermetilación* aberrante de las islas **CpG** en la región promotora juega un papel causal en la inactivación de varios genes clave involucrados en la cascada reguladora del ciclo celular, lo que podría resultar en una pérdida del control del mismo en los adenomas hipofisarios. Los resultados sugirieron que existe una frecuencia alta en los adenomas hipofisarios, especialmente en los genes de la vía **RB1**, siendo la hipermetilación del promotor del gen **p16 (INK4a)** la desregulación más común. Además, se obtuvo evidencia para indicar que las metilaciones de **RB1** y **p16 (INK4a)** tendían a ser mutuamente excluyentes, pero ocasionalmente coincidían con otras metilaciones de genes de regulación del ciclo celular (Yoshino y col., 2007).

Los genes tisulares altamente específicos generalmente carecen de islas. El contraste entre islas y el resto del genoma se pueden identificar secuencias que estarán disponibles en el núcleo. La metilación del ADN parece estar involucrada en esta función, más que en la activación de genes específicos (Bird, 1986).

El silenciamiento de **RASSF3** por *hipermetilación* del ADN se asocia con tumorigénesis en somatotropinomas. Se halló metilación frecuente de **RASSF3** en somatotropinomas, pero rara vez en adenohipófisis. También se observó hipermetilación y regulación a la baja de **RASSF3** en líneas celulares del somatotropinoma de ratón. El tratamiento con 5-Aza-2'desoxicitidina y tricostatina-A indujo la desmetilación del promotor **RASSF3** y restauró su expresión en las líneas celulares. La sobreexpresión de **RASSF3** en dichas líneas celulares inhibió la proliferación, indujo la apoptosis acompañada de un aumento de la proteína **Bax**, **p53** y **caspara-3**, con descenso de la expresión de la proteína **Bcl-2**. También se detectó que el efecto antitumoral de **RASSF3** era dependiente de **p53** y su caída bloqueaba la apoptosis inducida por **RASSF3**. Se sugiere que el silenciamiento de **RASSF3** inducido por hipermetilación juega un rol importante en la tumorigénesis de los somatotropinomas (Peng y col., 2013).

La *hipermetilación* de la región promotora está asociada con la pérdida de la expresión del gen **MEG3** en tumores pituitarios humanos. **MEG3** se expresa en la pituitaria humana normal. En contraste, no se detectó expresión de **MEG3** en tumores pituitarios humanos clínicamente no funcionantes. Estos datos indicarían que este gen impreso puede estar implicado en la tumorigénesis pituitaria. La hipermetilación de la región reguladora de **MEG3** es un mecanismo importante asociado con la pérdida de expresión de **MEG3** en tumores hipofisarios clínicamente no funcionantes (Zhao y col., 2005).

Se estudiaron las asociaciones entre la *metilación del promotor del transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (STAT3)*, la expresión del ARNm y la invasividad o recurrencia de los adenomas pituitarios. En el 10,78% de los adenomas pituitarios, el promotor del gen **STAT3** estaba metilado. En un grupo de pacientes mayores de 60 años se asociaron con una expresión reducida de **ARNm de STAT3**. Sin embargo, no se encontraron más diferencias estadísticas entre la metilación del promotor **STAT3**, la expresión del **ARNm** y las características clínicas del paciente o la invasividad/recurrencia de los adenomas (Valiulyte y col., 2017).

El inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 2 A del gen supresor de tumores múltiples 1 (**CDKN2A/MTS/p16**) desempeña un papel importante en el control de la progresión de la fase G a la fase S del ciclo celular mediante la inhibición de la fosforilación de **RBI** mediada por **CDK4**. Se demostró que la hipermetilación de la isla **CpG** dentro del exón 1, pero no el exón 2, del gen **CDKN2A** se asocia con frecuencia con la pérdida de expresión de proteínas en los tumores pituitarios no funcionantes, pero no en los somatotropinomas (Simpson y col., 1999).

La pérdida de expresión de **pRb** en los adenomas hipofisarios se asocia con la *metilación de la isla CpG* de **RB1**. No se encontraron mutaciones inactivadoras dentro de la región promotora de **RB1** en los 4 tumores no metilados que no pudieron expresar **pRB** (Simpson y col., 2000).

El **cuadro 8.1** muestra algunos genes y su función en la tumorigénesis pituitaria.

Cuadro 8.1: Genes y tumorigénesis

Gen	Nombre del gen	Ubicación	Función y tumorigénesis.	Tumores asociados
MEN1	Neoplasia endoc. múltiple 1	11q13.1	Supresor tumoral	Adenomas: PRL, GH, ACTH
CDKN1B	Inhibidor quinasa ciclina1B	12p13.1	Regulación del ciclo celular	Somatotropinomas
PRKAR1A	CAMP	17q24.2	Pérdida de PRKAR1A	Adenomas: GH, PRL
GPR101	Acoplado a proteína G	Xq26.3	Activación vía cAMP-KA	Somatotropinomas
DICER	Dicer1, ribonucleasa III	14q32	Desconocido	Blastoma hipofisario
AIP	Interactúa con arilo	11q13.2	Interacción: síntesis AMPc	Adenomas hipofisarios
GNAS	Activadora de guanina	20q13.32	Regula AMPc, activa PKA	Somatotropinomas
PTTG1	Transformador adenomas	5q33.3	Separación de cromátidas	Adenomas hipofisarios
STAT3	Transductor de señal	17q21.2	STAT3 > transcripción GH	Somatotropinomas
CDH23	Relación con caderina	10q22.1	Glicoproteína de adhesión	Somatotropinomas
PRDM2	PR/SET Dominio 2	1p36.21	Tumorigénesis por c-Myc	Somatotropinomas
SSTR	Receptores: Somatostatina:	_____	SSTR2: deficiente a SSA	Somatotropinomas
IGSF1	Superfamilia de Igs	Xq26.2	Glicoproteína de membrana	Hiperplasia somatotropa
SLC20A1	Familia Solute Carrier 20	2q14.1	Activación Wnt-β-catenina	Somatotropinomas
PRDM2	Proteína 2 dedo de zinc PR	1p36.21	Reglamento c-Myc	Somatotropinomas
GADD45y	Detiene crec, daño del ADN	9q22.2	Supresor tumoral	Somatotropinomas
LGALS3	Galectina 3 (Gal3)	14q22.3	Metilación promotor de gal-3	Adenomas: PRL, ACTH
RASSF1A	Familia dominio asoc. Ras1	3p21.31	Metilación promotor RASSF1A	Adenomas hipofisarios
USP8	Peptidasa 8 de ubiquitina	15q21.2	> EGFR y expresión de POMC	Corticotropinomas
USP48	Peptidasa de ubiquitina 48	1p36.12	Activa POMC	Corticotropinomas
BRAF	Protooncogén B-Raf	7q34	Protooncogén, > POMC	Corticotropinomas
HDAC2	Histona desacetilasa 2	6q21	Desconocido	Corticotropinomas
SFRP2	Proteína relacionada frizz 2	4q31.3	< β-catenina y via Wnt	Corticotropinomas
POMC	Proopiomelanocortina	2p23.3	Desconocido	Corticotropinomas
FGFR2	Receptor 2 del FGF	10q26.13	Fosforila Rb, regula ciclo p21	Corticotropinomas
PTAG	Gen apoptosis del adenoma	22q12.2	Desconocido	Corticotropinomas
IL-6R	Receptor de IL6/quinasa	_____	Desconocido	Adenomas células nulas
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinasa	3q26.32	Supervivencia, proliferación	Adenomas no secretores
CDKN2A	Inhibidor quinasa: ciclina 2a	9p21	Supresor tumoral, ciclo: G1-S	Adenomas GH, silentes
MEG3	Expresión materna 3	14q32.2	Supresor tumoral	Adenomas no secretores
ING2	Inhibidor del crecimiento	4q35.1	Desconocido	Adenomas no secretores

La inactivación de genes implicados en la vía mediada por **p15 (INK4b) - p16 (INK4a) - ciclina D/CDK4-RB1 (vía RB1)** reguladora del ciclo celular negativo es uno de los mecanismos más comunes para el crecimiento de las células tumorales. Se dio atención a la importancia de los mecanismos alternativos de inactivación de genes, en particular la hipermetilación del promotor en el silenciamiento transcripcional de tales genes supresores de tumores. Se investigó la desregulación de la vía **RB1** en 42 adenomas hipofisarios humanos esporádicos, observando el estado de metilación de esta vía. Se detectó una delección homocigótica del gen **p15 (INK4b)** o **p16 (INK4a)** en cada uno de los adenomas. La amplificación del gen **CDK4** no fue aparente en ninguno de los adenomas hipofisarios examinados. Se detectó hipermetilación del promotor de los genes **p15 (INK4b)**, **p16 (INK4a)** y **RB1** en 35,7%, 71,4% y 28,6% de los adenomas, respectivamente. Se sugirió que la inactivación de la vía **RB1** puede desempeñar un papel causal en la tumorigénesis pituitaria, siendo la hipermetilación del gen **p16 (INK4a)** la desregulación más común. Las metilaciones de **RB1** y **p16 (INK4a)** tienden a ser mutuamente excluyentes (Ogino y col., 2005).

La expresión de la transcriptasa inversa de la telomerasa (**TERT**) es un sello distintivo de la tumorigénesis y se regula debido a mutaciones y a metilación del promotor **hTERT** humano. Como las mutaciones son raras pero la metilación es común en los adenomas hipofisarios, se determinó la metilación del promotor y su impacto clínico en 85 adenomas pituitarios primarios y 15 recurrentes. En los tumores primarios, la tasa de metilación fue del 27% y más alta en hombres que en mujeres. La metilación no se correlacionó con el tamaño del tumor, la invasión del seno cavernoso o los niveles de hormonas séricas. El índice de **Ki67** y la recurrencia fueron independientes de la metilación. En los tumores recurrentes, la metilación fue similar a la de los adenomas primarios y se mantuvo sin cambios a lo largo del seguimiento (Kochling y col., 2016).

La desregulación genética mediada por epigenética es una característica común asociada con la tumorigénesis pituitaria humana. Se examinaron los cambios responsables de las modificaciones del ADN y las histonas como modos de comunicación independientes, pero potencialmente interrelacionados, que efectúan la remodelación de la cromatina. Se destacan las propiedades dinámicas de las enzimas implicadas en estas reacciones. Se utilizó el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (**FGFR2**) como modelo a través del cual el sistema de antígeno asociado al melanoma regulador de **p53 (MAGE)** gobierna en las células pituitarias (Ezzat, 2011).

Salomon y col. (2018) realizaron un análisis multiplataforma para identificar los fundamentos *genómicos y epigenómicos* de la enfermedad entre los tres subtipos principales de adenomas hipofisarios resecaados en 48 pacientes (somatotropinomas, corticotropinomas y adenomas silentes). La secuenciación del exoma se usó para perfilar el paisaje mutacional somático, la secuenciación del transcriptoma se aplicó para identificar patrones de expresión génica específicos de la enfermedad y el perfil de metilación del ADN basado en matrices se examinó para los patrones de metilación del ADN en todo el genoma. Las mutaciones somáticas de un solo nucleótido recurrentes y pequeñas fueron poco frecuentes entre los tres subtipos de adenoma. Sin embargo, se identificaron alteraciones somáticas del número de copias (**SCNA**) en los tres subtipos de adenomas hipofisarios. El análisis de metilación reveló perfiles de *metilación de ADN específicos de cada subtipo de adenoma*, con adenomas secretores de GH dominados por sitios *hipometilados*. La integración de los datos de metilación del ADN y expresión génica reveló que la hipometilación de las regiones promotoras está relacionada con una mayor expresión de los genes **GH1** y **SSTR5** en los adenomas secretores de GH y gen **POMC** en adenomas secretores de ACTH. La tinción IHC multiespectral de proteínas relacionadas con el sistema inmunológico mostró una expresión abundante de **PD-L1** entre los tres subtipos de adenomas. Estos datos enfatizan la contribución de las *alteraciones epigenómicas* a la etiología de la enfermedad entre los subtipos de adenomas.

Diversos estudios han demostrado que el gen 2 regulado en sentido descendente de **N-myc (NDRG2)** es un gen supresor de tumores, pero no se ha dilucidado su rol en la patogénesis del adenoma hipofisario. Se utilizó la MS-PCR para el análisis de metilación del promotor **NDRG2** y se evaluaron los niveles de expresión del ARNm del gen mediante qRT-PCR en 68 adenomas no funcionantes y 73 funcionantes. La invasividad se evaluó mediante RM. Se realizó un análisis para encontrar correlaciones entre la expresión del ARNm del gen **NDRG2**, la metilación del promotor y las características clínicas del paciente. Los diferentes

niveles de metilación y expresión del promotor **NDRG2** mostraron heterogeneidad tumoral e indican un papel potencial de este gen en la patogénesis del adenoma hipofisario. La expresión de ARNm de **NDRG2** fue menor en el caso de acromegalia y mayor en el prolactinoma. El promotor de **NDRG2** estuvo metilado en el 22,69% (12/58 funcionantes y 15/61 no funcionantes). Sin embargo, la expresión del ARNm del gen **NDRG2** no se relacionó significativamente con su estado de metilación. Concluyendo, los diferentes niveles de metilación y expresión del promotor **NDRG2** en muestras de adenomas hipofisario mostraron heterogeneidad tumoral e indican un papel potencial de dicho gen en la patogénesis (Vaitkiene y col., 2017).

La pérdida de expresión del gen inhibidor del crecimiento **GADD45γ**, en los adenomas hipofisarios humanos, se asocia con la metilación de la isla CpG. **GADD45γ** es un miembro de una familia de genes que son inducidos por el daño del ADN y funcionan en la regulación negativa del crecimiento celular. Se confirmó que la mayoría de los adenomas hipofisarios (67%) no expresan **GADD45γ**. La metilación de la isla CpG de los genes **GADD45γ**, fue un hallazgo frecuente (58%) y se asoció con tumores en los que no se expresó la transcripción de **GADD45γ** (Bahar y col., 2004).

Blake Hauser (2019) estudió la epigenética y las alteraciones en la expresión génica que proporciona una vía alternativa de tumorigénesis hipofisaria. La metilación del ADN por las *ADN metiltransferasas* (**DMNT**) silencia la expresión génica al reducir el acceso a los segmentos metilados de ADN. Las *histonas desacetilasas* (**HDAC**) y las *sirtuinas* modulan la acetilación de las histonas, que mejora el acceso transcripcional al ADN circundante, mientras que las histonas metiltransferasas como **RIZ1** alteran la metilación, lo que restringe el acceso transcripcional. La *citruilación de histonas* puede afectar la expresión de cromatina y puede estar mediada por *enzimas desaminasas* (**PAD**) (ver cuadro 8.2).

Cuadro 8.2: Genética	Interferencia de ARN	Epigenética
Mutación de secuencia	ARN largo no codificante (lncRNA)	Metilación del ADN
Alteración cromosómica	microARN (miARN)	Acetilación de histonas
Cambio en N° de copias	_____	Metilación- citruilación

La sobreexpresión de las proteínas A alta movilidad: **HMGA 1** y **HMGA 2** es una característica de los adenomas hipofisarios humanos. Se ha descrito amplificación y/o reordenamiento de **HMGA2** en prolactinomas humanos, pero rara vez en otros subtipos y no se detectó amplificación genómica de **HMGA1** (D'Angelo y col., 2015) (fig. 8.9).

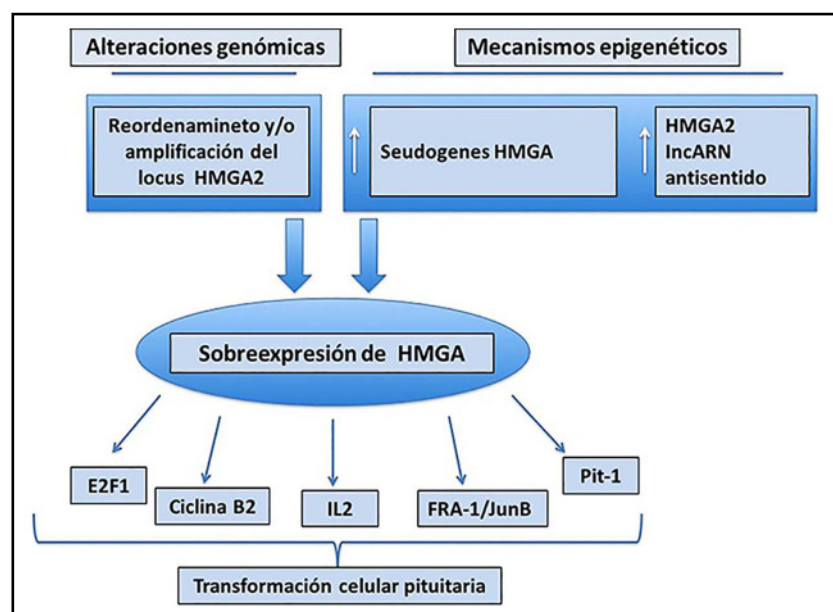


Fig. 8.9 Mecanismos genéticos y epigenéticos responsables de la sobreexpresión de HMGA en la transformación de células pituitarias (D'Angelo, 2015).

Fig. 8.10: se ven las modificaciones pretraduccionales que afectan la expresión génica.

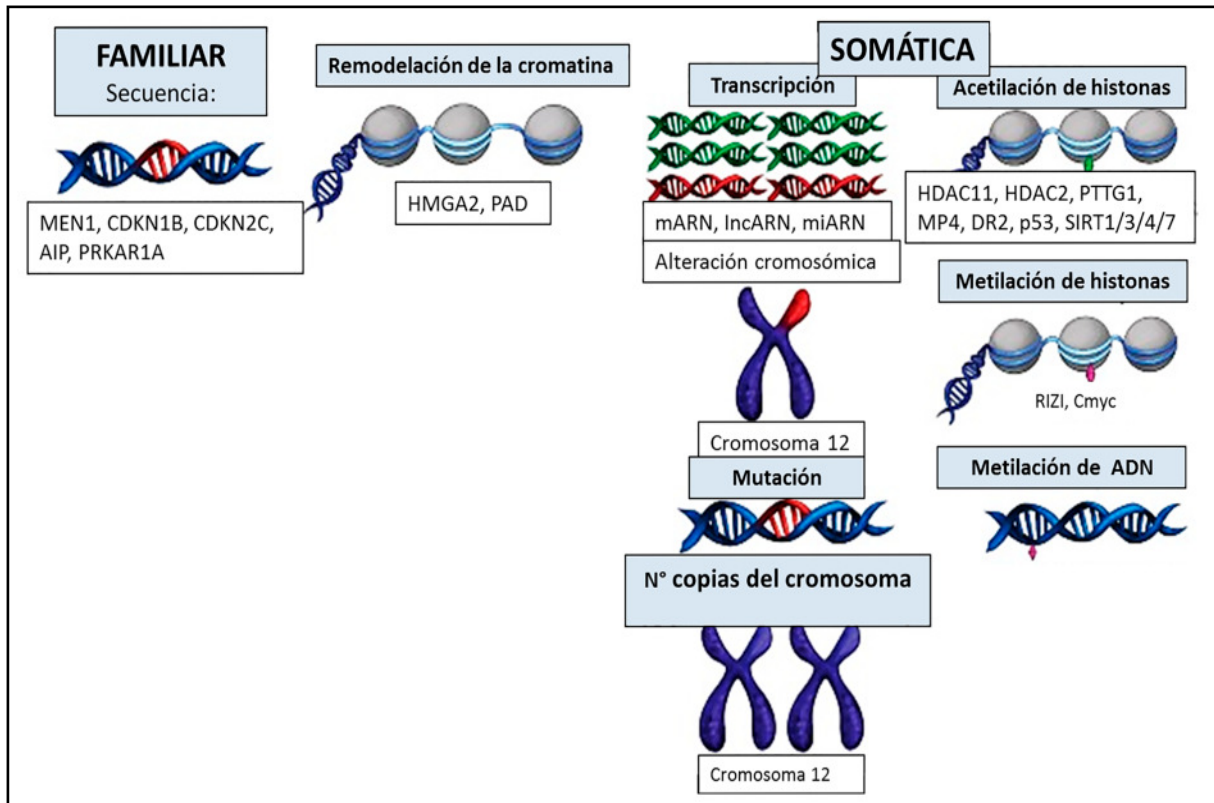


Fig. 8.10 Modificaciones pretraduccionales en la expresión génica (Blake Hauser, 2019).

Las modificaciones pueden ocurrir en cualquier punto desde el ADN empaquetado hasta la expresión de proteínas. Las alteraciones cromosómicas, los cambios en el N° de copias de los cromosomas y las modificaciones epigenéticas afectan la expresión. Las mutaciones en la secuencia del ADN o la metilación del ADN pueden cambiar la naturaleza de los genes expresados así como su nivel de expresión. El N° de copias de la transcripción del ARN también afecta la expresión de proteínas.

En la **fig. 8.11** que presentan las modificaciones epigenéticas y los reguladores.

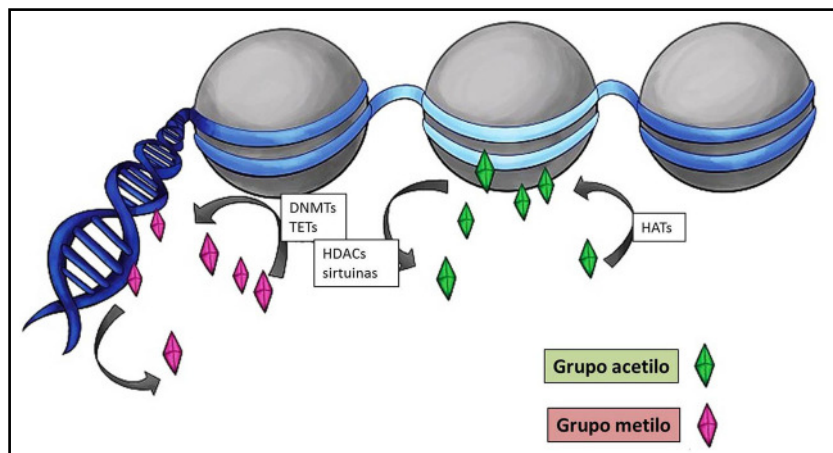


Fig. 8.11 Modificaciones epigenéticas y reguladores (Blake Hauser, 2019).

Las modificaciones epigenéticas se realizan mediante un conjunto de enzimas especializadas que actúan directamente sobre el ADN o sobre las histonas alrededor de las cuales se envuelve la cromatina. Las histonas acetiltransferasas (**HAT**) colocan grupos acetilo en la cromatina, mientras que las histonas desacetilasas (**HDAC**) y las **sirtuinas** hacen lo contrario. La acetilación de histonas típicamente regula al alza la expresión génica, denotada aquí por la región azul claro del ADN. Las metiltransferasas de ADN (**DNMT**) y las enzimas de translocación diez-once (**TET**) pueden alterar el nivel de metilación del ADN o de las histonas, que normalmente regula a la baja la expresión génica. Esto se denota por las regiones azul marino del ADN.

8.4 Epigenética de los adenomas hipofisarios

En el **cuadro 8.3** se presenta la regulación en tumores funcionantes, agresivos, invasivos y macroadenomas.

Cuadro 8.3	Tumor pituitario	Tumor funcionante	T. agresivo, invasivo o macroadenoma
Regulado al alza	DNMT3B HDAC11	HDAC2,RIZI, PAD, SIRT1/3/4/7	DNMT1 DNMT3A
Regulado a la baja	HMGA2	_____	SIRT1/3

Se muestran modificaciones del ADN (en rojo) y de histonas (en azul).

Chang y col. (2021) estudiaron las mutaciones genéticas en los adenomas hipofisarios. Las dividieron en variaciones hereditarias de la *línea germinal*, *mutaciones en mosaico* y *mutaciones somáticas no hereditarias*. Los dos primeros son a menudo familiares y se asocian con síndromes, mientras que los últimos son esporádicos. Las mutaciones en la proteína que interactúa con el *receptor de aril hidrocarburo (AIP)*, *GNA* y23 relacionadas con *caderina (CDH23)*, que están involucradas en las vías asociadas con *cAMP*, son clave para la tumorigénesis somatotropa (**fig. 8.12**).

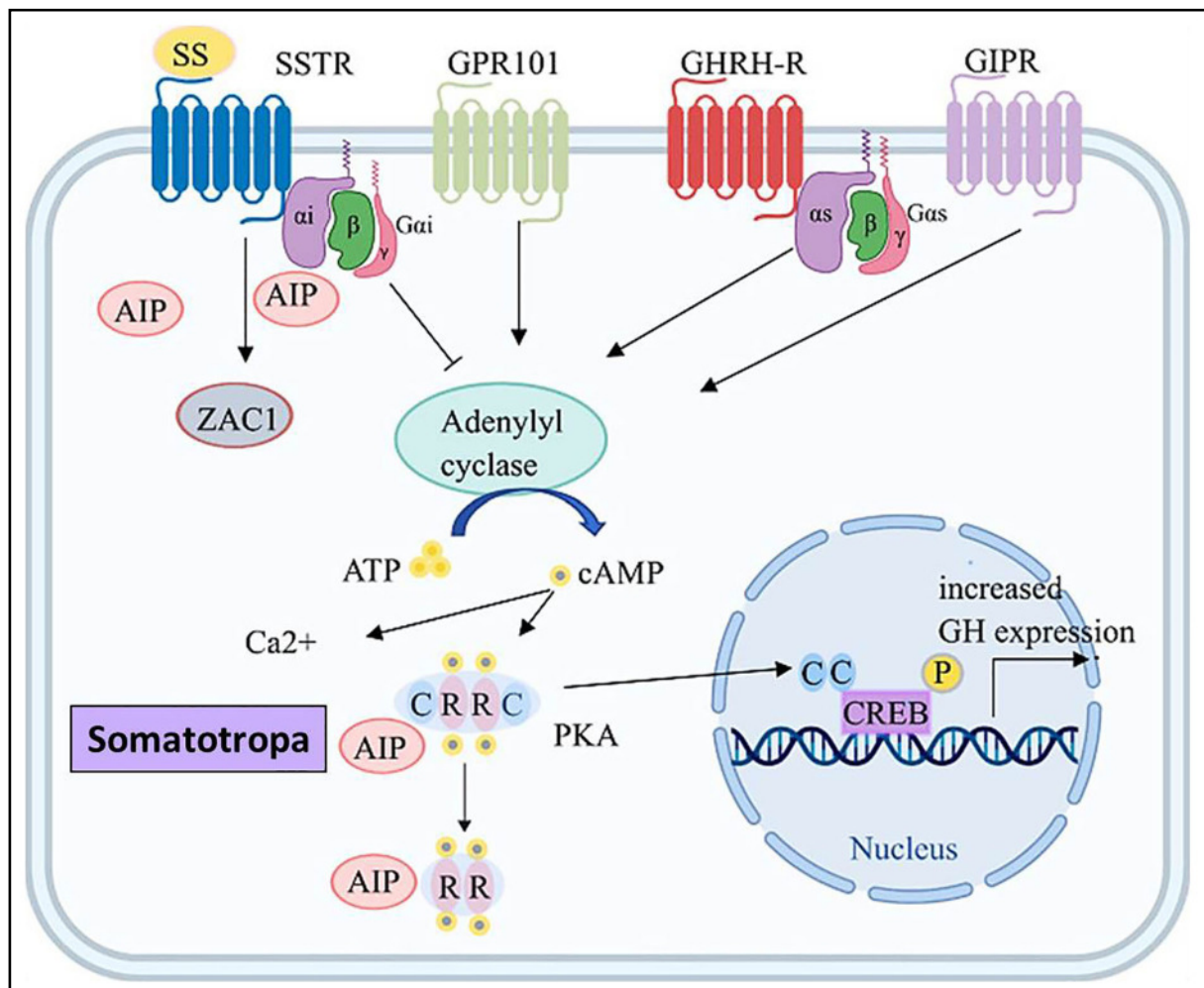


Fig. 8.12 Mecanismos tumorigénicos en las células somatotropas (Chang, 2021).

Las hormonas se unen a receptores (**GHRH-R, SSTR, GPR101, GIPR**) en el plasmalema de la somatotropa y activan la adenilil-cicla-sa a través de **Gsa**. El aumento en la producción de **AMPc** conduce a la disociación de las unidades reguladoras de **PKA** que luego se translocan para fosforilar **CREB** en el núcleo que conduce a una mayor expresión de **GH** y proliferación celular.

En la **figura 8.13** se presentan los mecanismos tumorigénicos en las corticotropas.

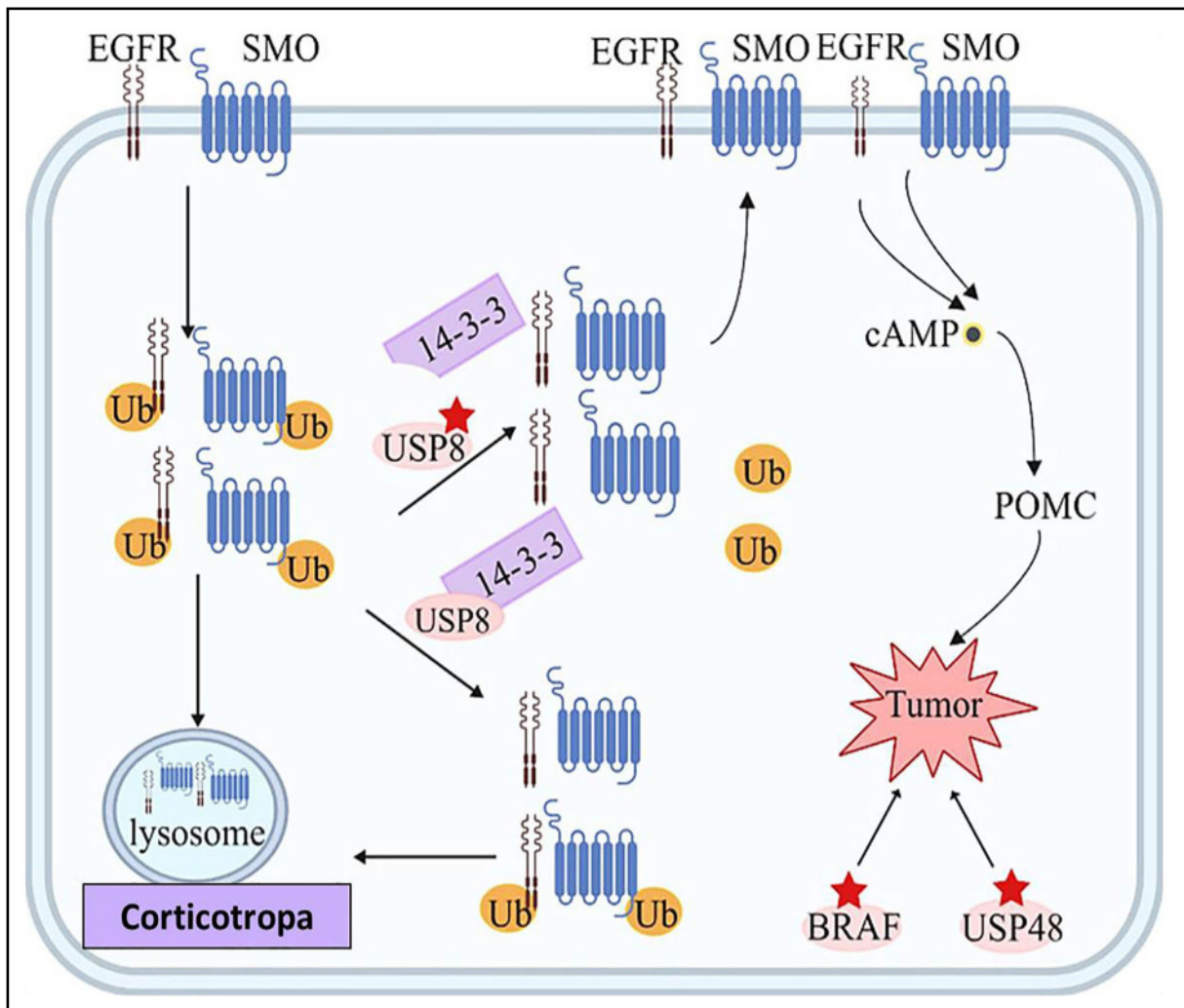


Fig. 8.13 Mecanismos tumorigénicos en las células corticotropas (Chang, 2021).

USP8 elimina las etiquetas de ubiquitina de los objetivos, como **EGFR** y **Smoothened (SMO)**, evitando que sufran degradación proteasomal y permitiendo el reciclaje a la superficie celular. El aumento de **EGFR** y **SMO** conduce a un aumento de los niveles de **cAMP** y **POMC**. La **USP8** mutada no puede unirse a la proteína **14-3-3** y sufre escisión, lo que aumenta la actividad enzimática que conduce a una mayor desubiquitinación de **EGFR-SMO**.

Fig. 8.14: IHQ nuclear para **DNMT1**, **DNMT3A** y **DNMT3B** en adenomas hipofisarios.

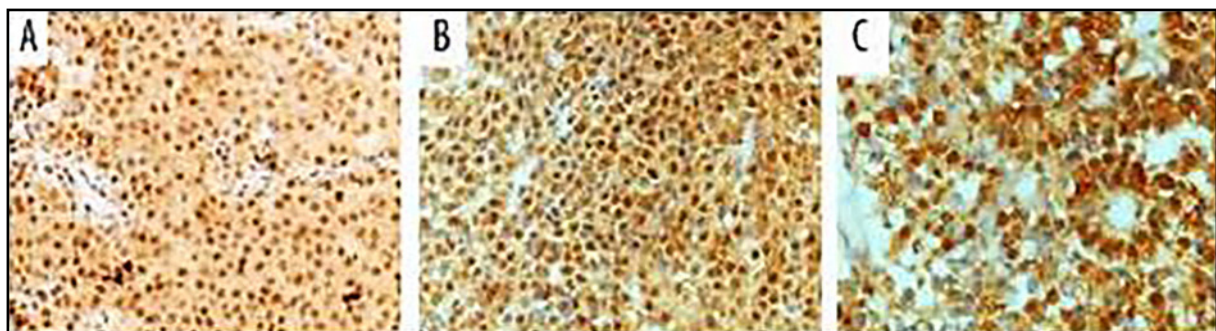


Fig. 8.14 IHQ nuclear de **DNMT1** (A), **DNMT3A** (B) y **DNMT3B** (C) en adenomas hipofisarios. (Blake Hauser, 2019).

En la **fig. 8.15** se ven las frecuencias del estado de metilación de TSG en adenomas según la expresión de **DNMT1**, **DNMT3A** y **DNMT3B**. Los grupos con sobreexpresión de **DNMT1** y **DNMT3A** tuvieron más tumores de alta metilación que los grupos con baja expresión de **DNMT1** y **DNMT3A** (72% frente a 40% y 69% frente a 40%, respectivamente).

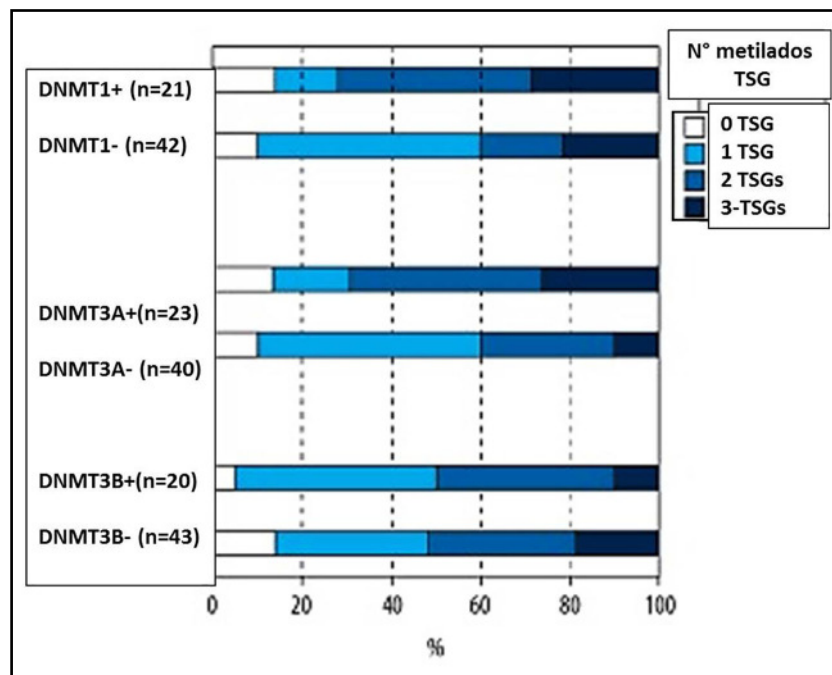


Fig. 8.15 Frecuencias del estado de metilación TSG en adenomas según la expresión de **DNMT1**, **DNMT3A** y **DNMT3B** (Blake Hauser, 2019).

Ma H. y col. (2018) detectaron sobreexpresión de *metiltransferasa 1* (**DNMT1**) en adenomas hipofisarios. La sobreexpresión de **DNMT1** fue más alta en macroadenomas, tumores invasores y grado III y IV. **DNMT3A** se detectó con frecuencia en tumores invasores y grado IV. Además, **DNMT1** y **DNMT3A** se detectaron en tumores de alta metilación. Existen al menos 5 mecanismos epigenéticos principales:

1) Metilación del ADN: es el fenómeno epigenético más estudiado y es necesario para silenciar los genes al obstaculizar el acceso de la maquinaria transcripcional al ADN a través de la alteración de los dinucleótidos CpG.

2) Modificación de histonas: la acetilación y metilación de histonas alteran la accesibilidad del ADN para facilitar o disminuir la traducción. La acetilación de los residuos de lisina (k) en la histona **H4** y la metilación de la lisina 9 (K9) en **H3** restringe el acceso a las regiones promotoras, mientras que la acetilación en K9 y K14 de **H3** y la metilación en K4 de **H3** activan las regiones promotoras del gen.

3) Impresión genética: mecanismo epigenético mediante el cual un alelo de un gen se inactiva mediante la metilación completa de la isla CpG. Este proceso también es un fenómeno de desarrollo normal y permite que un gen de los padres dicte el fenotipo de una descendencia. A diferencia de los genes normales, un gen impreso mostrará tasas de metilación superiores al 50%, ya que uno de los dos alelos está completamente metilado.

4) Modificadores del epigenoma: las *metiltransferasas de ADN* (**DNMT**) pueden alterar todo el epigenoma y la accesibilidad del ADN. Estas proteínas son responsables de establecer y mantener el epigenoma mediante la realización de modificaciones del ADN e histonas. Los modificadores escriben, leen y editan el epigenoma.

5) Reguladores de la transcripción: parte esencial de la regulación genética que controla los niveles de expresión génica. Pueden modificarse de modo epigenético y alterar la expresión de los genes. Los cambios epigenéticos, incluida la metilación del ADN, la modificación de histonas, los ácidos miARN y los ARN largos no codificantes desempeñan un papel fundamental. La elucidación de los mecanismos de la tumorigénesis hipofisaria puede contribuir al desarrollo de una nueva terapia para los adenomas hipofisarios.

En la **fig. 8.16** se ve la señalización de **cAMP** en adenomas hipofisarios.

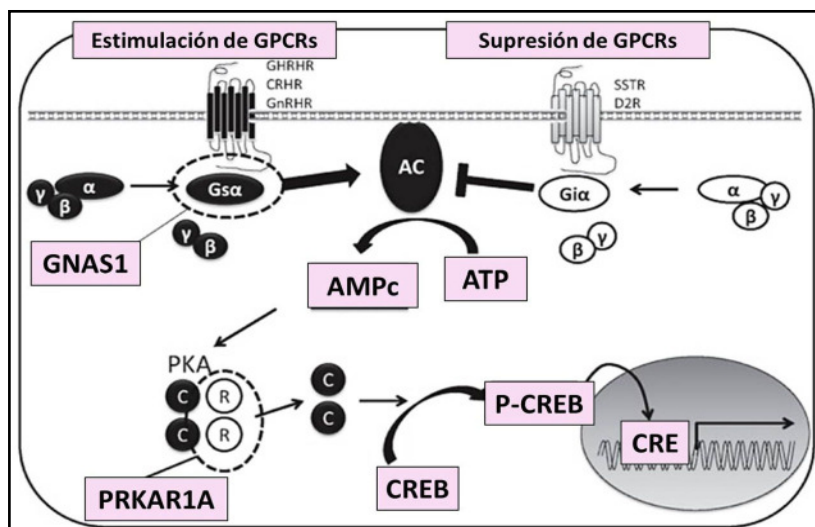


Fig. 8.16 Señalización de **cAMP** en adenomas hipofisarios (Fukuoka y Takahashi, 2014). La activación de mutaciones de ganancia de función somática en el gen **GNAS1**, que codifica la subunidad α de la proteína G estimuladora (**Gs α**), causa somatotropinoma. La pérdida de expresión y/o mutaciones funcionales en el gen **PRKAR1A** da el complejo de Carney. El gen **PRKAR1A** codifica la subunidad reguladora de tipo 1 (R) de la proteína quinasa A que inhibe las subunidades catalíticas (C) activadas por un aumento en los niveles intracelulares de **AMPc**. AC: adenil-ciclase, CRE: elementos de respuesta a cAMP, cAMP: adenosina monofosfato cíclico, CREB: proteína de unión a elementos que responden a cAMP, CRHR: receptor de la hormona liberadora de corticotropina, D2R: receptor de la dopamina tipo 2, GH: hormona del crecimiento, GHRHR: hormona liberadora de la hormona del crecimiento receptor, Gi α : subunidad α de la proteína G inhibidora, GnRHR: receptor de la hormona liberadora de gonadotropina, GPCR: receptor acoplado a proteína G, Gs α : subunidad α de la proteína G estimulante, p-CREB: fosfo-CREB, PKA: proteína quinasa A, SSTR: receptor de somatostatina (Fukuoka y Takahashi, 2014).

Cuadro 8.4: se presentan de los genes supresores tumorales modificados por epigenética en los adenomas hipofisarios (Pease y col., 2013).

Cuadro 8.4: Genes supresores tumorales	Función	Camino alterado
CDKN2A / p16 INK4a	Regulación del ciclo celular (G1 a S)	CDKN2A / Rb1
Rb1 / pRb	Regulación del ciclo celular (G1 a S)	CDKN2A / Rb1
p21 y p27	Regulación del ciclo celular (G1 a S)	p53
Quinasa DAP	Apoptosis mediada por p19ARF	p53
p73	Apoptosis (homóloga a p53)	p53
p14 ARF	Apoptosis y regulación del ciclo celular	p53
GADD45γ	Repara ADN, regula ciclo, apoptosis, estabiliza p53, hipermetila ADN	p53, AID/Apobec-1, vía JNK
FGFR2 *	Apoptosis y regulación del ciclo celular	p53
E-caderinas	Cuerpos fibrosos	Desconocido
Caspasa-8	Apoptosis, degradación de ECM	Receptores muerte 4 y 5
RASSF1A	Regulación del ciclo celular y apoptosis	Microtúbulos, ciclina D1, vía de apoptosis extrínseca
RHBDD)/PTAG	Apoptosis	Membrana mitocondrial
TIMP-3	Apoptosis	Apoptosis del receptor
MGMT	Reparación de ADN	Reparación de ADN
TSP-1	Angiogénesis	CD36
S100A10	Degradación de ECM	Inflamación

La modificación epigenética de genes de los adenomas hipofisario puede desempeñar un papel clave en la tumorigénesis, lo que puede traducirse en importantes aplicaciones diagnósticas y terapéuticas. Las *sirtuinas 1-7 (SIRT)* son una familia de histonas desacetilasas implicadas en la regulación de la longevidad que tienen un impacto considerable en la transcripción, la regulación de la reparación del ADN, la estabilidad telomérica, la senescencia celular y la apoptosis. Se evaluaron los niveles de ARNm de **SIRT1-7** en 37 somatotropinomas y 31 adenomas hipofisarios no funcionantes (NFPA). Se observó sobreexpresión de **SIRT1** en el 86,5% de los somatotropinomas y en el 41,9% de los NFPA. **SIRT3** estaba menos expresado en NFPA que en somatotropinomas (77,4 vs 40,5%, respectivamente), así como **SIRT4** y **SIRT7**. A pesar de la *falta de asociación entre las sirtuinas y la invasividad o el índice Ki-67*, las expresiones de **SIRT1** y **SIRT3** se relacionaron con el tamaño del tumor (Grande y col., 2018).

El silenciamiento epigenético de los genes de la *metaloproteínasa-14 de la matriz (MMP-14)* y del *factor de crecimiento transformante β -1 (TGF β -1)* puede estar asociado con el desarrollo de adenomas pituitarios, ya que estos genes son importantes en los procesos de metástasis tumoral y angiogénesis. El gen **MMP-14** estuvo metilado en el 30% de los adenomas y el gen **TGF β -1** en el 13,3%. Se observó que la metilación del promotor de **MMP-14** se correlacionó con el género masculino (58.8 vs 35.7%), mientras que **MMP-14** sin metilar se correlacionó con el género femenino (64.3 vs 41.7%) (Ruskyte y col., 2016).

Cuadro 8.5: regulación epigenética que incluye: acetilación de histonas, impronta genética, modificadores epigenéticos, reguladores de transcripción (Pease, 2013).

Cuadro 8.5 Genes	Tipo	Función	Camino alterado	Expresión genética	Activación o inactivación
MAGEA3	Oncogén	Apoptosis, ciclo cel.	p53	Incremento	Hipometilación
PTTG	Oncogén	Ciclo celular, estab. cromosómica	c-Myc, FGF2	Incremento	Acetilación de histonas
GNAS1	Gen impreso	Función de la proteína G; oncogén	Función de proteína G	Expresión gen mutado	Impresión de relajación
Neuronatina (NNAT)	Gen impreso	Regula ciclo celular y apoptosis	Incierto	Disminución	Metilación de genes no impresos
MEG3	Gen impreso	Apoptosis, regula ciclo celular	p53	Disminución	Metilación de genes no impresos
DNMT3b	Escritor epigenético	Metilación >	Metilasa <i>de novo</i>	Incremento	Hipometilación y modificación de histonas
Ikaros	Regulador transcripción	Apoptosis, expresión: genes GH/PRL	Vía apoptótica Bcl-XL	Isoformas alternas empalmadas	Metilación >
HMG2 *	Regulador transcripción	Regula ciclo celular	E2F-pRb	Incremento	Ninguno descubierto

Se demostró que el **MEG3a** inhibe el crecimiento celular *in vitro*. El **MEG3** se expresa en la pituitaria humana normal, pero no se detectó expresión en tumores pituitarios humanos no funcionantes. Estos datos indican que este gen impreso puede estar implicado en la tumorigénesis pituitaria. La hipermetilación de la región reguladora de **MEG3** es un mecanismo importante asociado con la pérdida de su expresión en tumores hipofisarios no funcionantes (Zhao y col., 2005).

El *factor de transcripción Ikaros (Ik)* está en el centro de una red de remodelación de cromatina que es fundamental para el desarrollo y la regulación de los sistemas inmune y endocrino. Las formas negativas dominantes de **Ik** dan como resultado un crecimiento neoplásico. **Ik** modula la accesibilidad de la cromatina a través de asociaciones con los complejos de histona desacetilasa. Se demostró que la expresión de **Ik** en

las células corticotropas está regulada mediante modificaciones de histonas y metilación del ADN. El examen de muestras pituitarias humanas primarias también identificó una correlación de la pérdida de expresión de **Ik** con la presencia de metilación del ADN en la isla CpG del exón 1 no traducido (Zhu y col., 2007).

En la **fig. 8.17** se ve la regulación aberrante del ciclo celular en la tumorigénesis pituitaria (Fukuoka y Takahashi, 2014).

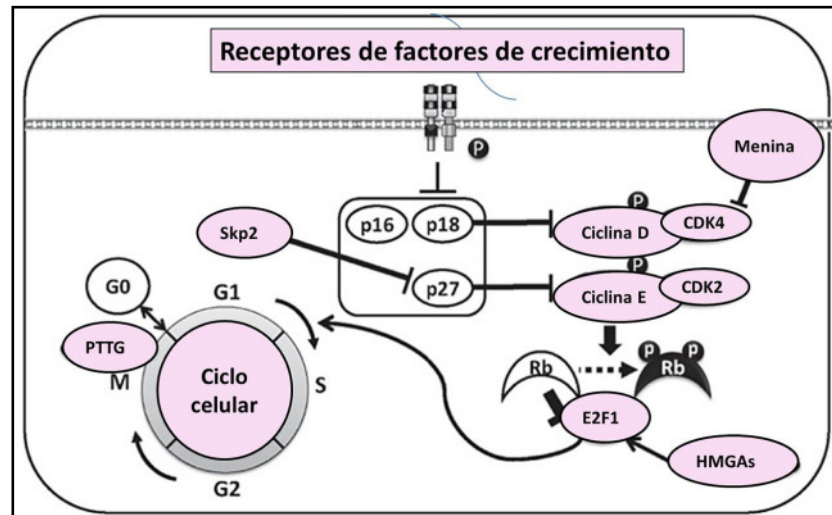


Fig. 8.17 Tumorigénesis pituitaria: regulación del ciclo celular (Fukuoka, 2014). La delección dirigida en el gen **Rb** da como resultado adenomas hipofisarios que dependen de un factor de transcripción **E2F**, que induce la entrada de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. Las quinasas dependientes de ciclina (**Cdks**), la **ciclina D** y **E** fosforilan e inactivan la proteína **Rb**. Las ciclinas **D** y **E** son inactivadas por los inhibidores de Cdk (**Cdkis**) **p16**, **p18** y **p27**. **Skp2** regula negativamente **p27** por degradación de proteínas. Una activación del factor de crecimiento que incluye el receptor de **EGF** suprime las **Cdks**. Una sobreexpresión de factores transcripcionales arquitectónicos **HMGAs** induce adenomas hipofisarios de manera dependiente de **E2F**. El gen **MEN1** codifica la **menina**. Este es un gen supresor de tumores y está mediado por **Cdk4**. El gen transformador de tumores hipofisarios (**PTTG**) regula la transición a metafase como una **securina**. Una sobreexpresión de **PTTG** induce adenomas hipofisarios en sentido descendente de **Rb/E2F**.

8.5 Epigenética de la acromegalia

Se necesitan biomarcadores de resultado clínico y terapéutico en la acromegalia. Los polimorfismos o cambios epigenéticos de los genes de desintoxicación, como los que codifican el receptor de aril hidrocarburo (**AHR**) y la glutatión-S-transferasa-P1 (**GSTP1**), podrían tener un rol en la fisiopatología y expresión clínica de los somatotropinomas. Se evaluó la contribución del estado de metilación del promotor del gen **GSTP1**, per se o en combinación con la aparición de la variante rs2066853 del gen **AHR**, sobre las características clínicas y la respuesta al tratamiento con análogos de somatostatina (**SSA**) en pacientes con acromegalia. La metilación del gen **GSTP1** se asoció con resistencia al tratamiento con **SSA**, especialmente en pacientes portadores también de la variante **AHR rs2066853** (Ferraù y col., 2019).

Referencias

- Bahar A et al. La pérdida de expresión del gen inhibidor del crecimiento GADD45y, en los adenomas hipofisarios humanos, se asocia con la metilación de la isla CpG. *Oncogén* 23:936-44, 2004.
- Bird AP: Islas ricas en CpG y la función de la metilación del ADN. *Nature* 321: 209-213, 1986.
- Blake M. Hauser et al. La epigenómica del adenoma hipofisario. *Front Endocrinol (Lausana)* 10: 290, 2019.
- Chang M et al. Causas genéticas y epigenéticas de los adenomas hipofisarios. *Front Endocrinol (Lausana)* 11:596554, 2021.
- Cheng Z, Zheng L, Almeida F. Reprogramación epigenética en trastornos metabólicos: factores nutricionales y más allá. *J Nutr Biochem* 54: 1-10, 2018.
- D'Angelo D, Esposito F, Fusco A. Mecanismos epigenéticos que conducen a la sobreexpresión de proteínas HMGA en adenomas pituitarios humanos. *Front Med* 2:39, 2015.
- Dawson MA, Kouzarides T: Epigenética del cáncer: del mecanismo a la terapia. *Cell* 150: 12-27, 2012.
- DeVore SB et al. La citrulinación de histonas reprime la expresión de miARN dando como resultado un aumento de ARNm de oncogén en células somatolactotropas. *Mol Cell Biol* 38:e00084-18, 2018.
- Ebrahimi A et al. Los patrones de acetilación de histonas de los adenomas hipofisarios típicos y atípicos indican un cambio epigenético de estos tumores. *J Neuroendocrinol* 23: 525-30, 2011.
- Ezzat S: Control epigenético en tumores hipofisarios. *Endocr J* 55: 951– 957, 2008.
- Farrell W. Mecanismos epigenéticos de la tumorigénesis. *Horm Metab Res* 37(6):361-8, 2005.
- Ferràu F et al. La metilación del gen GSTP1 y la variante AHR rs2066853 predicen la resistencia a los análogos de la somatostatina de primera generación en pacientes con acromegalia. *J Endocrinol Invest* 42 (7): 825-831, 2019.
- Fuks F et al. ADN metiltransferasa Dnmt1 se asocia con actividad de histona desacetilasa. *Nat Genet* 24: 88–91, 2000.
- Fuks F et al. La proteína de unión a metil-CpG MeCP2 une la metilación del ADN con la metilación de histonas. *J Biol Chem* 278: 4035–4040, 2003.
- Fukuoka H, Takahashi Y. El papel de los cambios genéticos y epigenéticos en la tumorigénesis hipofisaria. *Neurol Med Chir (Tokio)* 54(12):943-57, 2014.
- Grande IPP et al. Expresión diferencial de genes de sirtuinas entre somatotropinomas y adenomas hipofisarios no funcionantes. *Pituitaria* 21:355-61, 2018.
- Kochling M et al. Metilación del promotor hTERT en adenomas hipofisarios. *Pathol del tumor cerebral* 33:27-34, 2016.
- Li T et al. La histona acetiltransferasa p300 regula la expresión del gen transformador de tumores pituitarios humanos (hPTTG). *J Genet Genomics* 36:335-42, 2009.
- Ma HS et al. La sobreexpresión de ADN (citosina-5)-metiltransferasa 1 (DNMT1) y ADN (citosina-5)-metiltransferasa 3A (DNMT3A) se asocia con comportamiento agresivo e hipermetilación de genes supresores de tumores en adenomas hipofisarios humanos. *Med Sci Monit* 24:4841–50, 2018.
- Ogino A et al. La vía p15 (INK4b)/p16 (INK4a)/RB1 se desregula con frecuencia en los adenomas hipofisarios humanos. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:398-403, 2005.
- Okano M et al. Las metiltransferasas de ADN Dnmt3a y Dnmt3b son esenciales para la metilación de novo y el desarrollo de los mamíferos. *Cell* 99: 247-257, 1999.
- Olzscha H et al. Desacetilación de la cromatina y regulación de la expresión génica: un nuevo objetivo para la terapia epigenética. *Crit Rev Oncog* 20(1-2):1-17, 2015.
- Pease M et al. El papel de la modificación epigenética en la tumorigénesis y la progresión de los adenomas hipofisarios: una revisión sistemática de la literatura. *Plus One* 8(12):e82619, 2013.
- Peng H et al. El silenciamiento de RASSF3 por hipermetilación del ADN se asocia con tumorigénesis en adenomas somatotropos. *PLuS ONE* 8: e59024, 2013.

- Revill K et al. La pérdida de expresión de neuronatina se asocia con la hipermetilación del promotor en el adenoma hipofisario. *Endocr Relat Cancer* 16: 537– 548, 2009.
- Ruskyte K et al. Metilación de MMP-14 y TGFbeta-1 en adenomas hipofisarios. *Oncol Lett* 12:3013-7, 2016.
- Salomon MP et al. El panorama epigenómico de los adenomas hipofisarios revela alteraciones específicas y diferencias entre acromegalia, enfermedad de Cushing y subtipos endocrinos inactivos. *Clin Cancer Res* 24(17):4126-4136, 2018.
- Simpson DJ et al. La hipermetilación del gen p16/CDKN2A/MTSI y la pérdida de expresión de proteínas se asocian con adenomas hipofisarios no funcionantes pero no con somatotropinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 24: 328– 336, 1999.
- Simpson DJ et al. La pérdida de expresión de pRb en los adenomas hipofisarios se asocia con la metilación de la isla CpG de RB1. *Cancer Res* 60:1211-6, 2000.
- Vaissière T et al. Interacción epigenética entre las modificaciones de histonas y la metilación del ADN en el silenciamiento de genes. *Mutat Res* 659(1-2):40-8, 2008.
- Vaitkiene P et al. Metilación y expresión del promotor del gen 2 regulado en sentido descendente (NDRG2) de N-myc en el adenoma hipofisario. *Diagnost Pathol* 12(1):33, 2017.
- Valiulyte I et al. Transductor de señal y activador de la metilación del promotor de la transcripción 3 (STAT3) y expresión en el adenoma pituitario. *BMC Med Genet* 18:72, 2017.
- Wang W et al. La histona desacetilasa 11 suprime la expresión de p53 en células tumorales pituitarias. *Cell Biol Int* 41:1290-5, 2017.
- Wu L, Zhou H, Zhang Q, Zhang J, et al. DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Mol Cell* 38(3):465-475, 2010.
- Yoshino A et al. Perfil de hipermetilación del promotor de genes reguladores del ciclo celular en adenomas hipofisarios. *J Neurooncol* 83: 153– 162, 2007.
- Zhao J et al. La hipermetilación de la región promotora está asociada con la pérdida de la expresión del gen MEG3 en tumores pituitarios humanos. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 2179-86, 2005.
- Zhu X et al. El ácido desoxirribonucleico metiltransferasa 3B promueve el silenciamiento epigenético a través de modificaciones de la cromatina de la histona 3 en las células pituitarias. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3610-7, 2008.
- Zhu X et al. Silenciamiento epigenético a través del ADN y la metilación de histonas del receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos en células neoplásicas de la pituitaria. *J Pathol* 170:1618-28, 2007.
- Zhu X et al. Ikaros está regulado a través de múltiples modificaciones de histonas y metilación del ácido desoxirribonucleico en la pituitaria. *Mol Endocrinol* 21: 1205-1215, 2007.

CAPÍTULO 9

HIPÓFISIS Y ENVEJECIMIENTO

9.1 El proceso de envejecimiento

Desde tiempos remotos el sueño del hombre ha sido lograr la eterna juventud. Los alquimistas medievales intentaron sintetizar el elixir de la eterna juventud. Parece que la Ciencia ha encontrado en el citoplasma del ovocito la fuente biológica del rejuvenecimiento.

El envejecimiento induce cambios morfológicos y funcionales a nivel del eje hipotálamo-pituitario-órgano blanco, determinando una declinación en la integridad de la capacidad morfológica y funcional de los sistemas nervioso, inmune y endocrino, junto con un descenso en su habilidad para mantener la homeostasis (Meites y col., 1987).

La homeostasis de un individuo es dinámica y se ajusta en cada etapa de la vida. El objetivo de la **Gerontología** moderna es **agregar calidad de vida a los años y no simplemente años a la vida**. La **senescencia celular** implica la activación de una serie de programas efectores desencadenantes (Salama y col., 2014). El balance entre los mecanismos de **longevidad** y **senescencia** fundamenta la variabilidad del envejecimiento.

- **Senescencia:** es definida como la pérdida de las funciones fisiológicas que se producen con el envejecimiento, mientras que la longevidad sería la fuerza actuante que impide o retrasa el inicio de la senescencia.

- **Longevidad** es la resistencia al deterioro relacionado con la edad que se mide mediante parámetros fisiológicos como la fuerza muscular y la actividad física o la incidencia de marcadores patológicos como las neoplasias y la degeneración del sistema neuroendocrino.

El envejecimiento presenta un determinismo ya que el individuo está programado para envejecer de acuerdo a etapas bien definidas para su propia especie y es un proceso multifactorial, ya que la programación inicial (factores genéticos) puede ser influenciada por el medio ambiente (factores epigenéticos). A nivel evolutivo, no se acepta que el envejecimiento pueda estar seleccionado a favor o en contra de una población, ya que la muerte por enfermedad, accidentes y depredación, se produce antes de que los organismos comiencen a envejecer. Mientras la **senescencia** podría producirse por acumulación de genes deletéreos, la **longevidad** se debería a la alteración de los sistemas genéticos que controlan los mecanismos enzimáticos reparadores (Sacher, 1978).

El envejecimiento no es simplemente una acumulación de daño o de señalización, aunque implique ambos mecanismos y se produce como una respuesta a la falta de información genómica adaptativa, por disminución de las fuerzas de la selección natural durante la vida adulta. El envejecimiento sería producido por fuerzas evolutivas que actuarían sobre la variabilidad genética propia de cada especie. La propuesta evolutiva sugiere que no hay causas fisiológicas capaces de evitar el envejecimiento, sino una falla en la selección natural (Rose, 2009).

La edad provoca alteraciones en el *eje hipotálamo-pituitario-órgano blanco*. A nivel hipotalámico, la pérdida de neuronas determina un descenso en los niveles de los *neurotransmisores* y de las *hormonas hipofisotróficas (HH)* (Meites, 1992).

- **Nivel hipofisario:** *disminución del número de receptores* crea una hiposensibilidad ante los estímulos hipotalámicos.

- **Nivel sérico:** la *menor síntesis-liberación de las hormonas hipofisarias* determina variaciones en los niveles hormonales, con alteración de los *ritmos circadianos* y presencia de *isoformas* que pierden su potencial bioactivo.

- **Nivel de los órganos blanco:** el *descenso de los receptores periféricos* causa hiposensibilidad, *menor síntesis de hormonas y alteración de los mecanismos de retroalimentación*.

Strehler (1977) distinguió tres categorías de individuos:

- a. Los que nunca tienen oportunidad de envejecer porque se dividen y producen dos individuos nuevos.
- b. Los que envejecen porque no reemplazan las partes dañadas.
- c. Los que se protegen del envejecimiento porque tienen un régimen de sustitución continuo, como los organismos unicelulares o los grupos de células de organismos pluricelulares.

Las **teorías sobre el envejecimiento** se agrupan en **moleculares, celulares y sistémicas** (Timiras y col., 1995). Las teorías son interdependientes y exponen distintos puntos de impacto sobre el proceso de envejecimiento, considerando la interacción de factores predeterminados y estocásticos. Una sola teoría aislada no satisface todos los cuestionamientos. Las teorías buscan una sincronización de los **factores genéticos y epigenéticos** que impactan sobre el complejo proceso de envejecimiento.

1. Teoría de la mutación genética y reparación del ADN: agentes mutantes: radiaciones, químicos, drogas, radicales libres, virus (Szilard, 1959).

2. Teoría de la capacidad celular proliferativa ilimitada: se basa en la pérdida del potencial proliferativo de los fibroblastos humanos normales en cultivo. Sólo dos líneas celulares podrían escapar al envejecimiento: las células neoplásicas y las células germinales (Hayflick y col., 1961).

3. Teoría del error-catástrofe: daños en la síntesis de proteínas por fallas en el ARN mensajero (Orgel, 1963).

4. Teoría del entrecruzamiento molecular: numerosas moléculas biológicas se entrecruzan con otras, alteran sus propiedades físico-químicas y provocan daño celular (Bjorksten, 1968 y 1990).

5. Teoría inmunológica: se sustenta en la declinación del sistema inmune que se vuelve más vulnerable frente a diversos agentes y permite el desarrollo de enfermedades autoinmunes y neoplásicas (Walford, 1974).

6. Teoría de “usar y descartar”: los seres vivos serían como maquinarias que fallan en sus funciones (Sacher, 1977).

7. Teoría neuroendocrina: la expresión génica de las células comando de los sistemas nervioso, endocrino e inmune resultan críticas en la senectud (Meites y col., 1987).

8. Teoría de los radicales libres: varias enzimas (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión-peroxidasa) y vitaminas (E, C, carotenos) protegen contra el daño oxidativo (Harman, 1956 y 1992). La melatonina, hormona secretada por la glándula pineal, disminuye con el envejecimiento y es un captador de radicales libres (Reiter, 1995 y 1997).

9. Teoría de la regulación genética: los gerontogenes podrían promover o inhibir la proliferación celular (Danner, 1992).

Los **biomarcadores del envejecimiento** son:

- a. Disminución de la capacidad reproductiva.
- b. Declinación de GH y somatomedinas que determina una menor síntesis proteica.
- c. Descenso de la respuesta inmune.
- d. Desarrollo de prolactinomas y neoplasias mamarias con hiperprolactinemia (Meites, 1988).

A nivel fisiológico, la nutrición modifica el desarrollo orgánico, el envejecimiento y el inicio de las enfermedades. La depleción de nutrientes altera el índice de envejecimiento y los animales de laboratorio sometidos a restricción nutricional retardan su senescencia (Masoro, 1988).

- **Nivel celular:** Pearl (1922) propuso que todos los tejidos esenciales de los metazoos son inmortales y sostuvo que la causa de muerte se debería a la diferenciación celular que lleva a la especialización

fisiológica. Además, hay evidencias de que el patrón de expresión génica cambia con la diferenciación celular. La senescencia celular y la apoptosis hacen referencia a la respuesta de las células mitóticamente competentes frente a un estímulo con potencial neoplásico, ejerciendo influencia sobre los fenotipos del envejecimiento (Campisi, 2003). Se han identificado estímulos que inducen senescencia, incluyendo los telómeros disfuncionales, el daño del ADN y la expresión de ciertos oncogenes. La senescencia celular está controlada por varios genes supresores de tumores como el **p53** (Ithana y col., 2001). En contraste con la apoptosis, la senescencia celular no elimina células disfuncionales, dañadas o neoplásicas, sino que impide su proliferación. Las células se someten a un número finito de divisiones mitóticas y al final entran en senescencia replicativa. El acortamiento de los telómeros es el reloj molecular que desencadena la senescencia. La extensión de la vida se podría lograr con el uso de la telomerasa en las células humanas normales (Bodnar y col., 1998; Fossel, 1998). La replicación se produce por *acortamiento de los telómeros* debido a que no se expresa la *telomerasa* mediante la ribonucleoproteína de la *transcriptasa inversa* que sintetiza los extremos 3' de los cromosomas lineales. Dicha enzima es responsable del envejecimiento celular, la tumorigénesis y la renovación celular. Se ha documentado su ultraestructura, la organización del dímero y sus dominios (Miracco y col., 2014). La telomerasa contiene proteínas con una señal de localización nuclear bipartita y una secuencia de direccionamiento mitocondrial que previene la erosión de los telómeros e impide la senescencia replicativa. Además, la telomerasa regularía el ciclo celular, la expresión génica y la respuesta al daño en el ADN (Ale-Agha y col., 2014).

- **Nivel molecular:** los organismos declinan la *síntesis proteica* con la edad (Maynard Smith y col., 1970) y presentan deterioro por acumulación de *proteínas alteradas* en su estructura (Nagy y Nagy, 1980; Tollfsboll y Gracy, 1983). También hay descenso o desregulación de la *fosforilación oxidativa* que involucra a los genes nucleares y al ADN mitocondrial (Wallace, 1992). El daño en la fosforilación oxidativa explica las enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer.

- **Nivel hipotalámico:** la declinación de las *catecolaminas* provoca una menor secreción de *hormonas hipotalámicas estimuladoras* (GHRH, GnRH y TRH) que a nivel pituitario se refleja en un descenso de la secreción de GH, TSH, LH y FSH (Sonntag y col., 1988). La reducción de las catecolaminas hipotalámicas se produce por: **a.** Daño y *pérdida neuronal* por tóxicos y por acción crónica de estrógenos y glucocorticoides y **b.** Cambios enzimáticos en la síntesis de *noradrenalina* y *dopamina*, por acción de radicales libres y toxinas, con acúmulo de lipofucsina (Meites, 1988). La enfermedad de Parkinson se asocia con un descenso de la dopamina hipotalámica y la enfermedad de Alzheimer con alteraciones colinérgicas (Jodko y Litwinienko, 2010; Szot, 2012; Hong y col., 2014). Se hallaron neuronas dopaminérgicas agrupadas en las áreas A12 y A14 (Tillet y Kitahama, 1998). El área A12 está ubicada en el núcleo arcuato-zona periventricular y sus axones, liberadores de dopamina, se proyectan hacia la eminencia media, ejerciendo su acción sobre el lóbulo pituitario anterior (Kawano y Daikoku, 1997). Este *sistema túbero-infundibular dopaminérgico (TIDA)* regula la secreción de PRL ejerciendo un control inhibitorio sobre la población lactotropa (Ben-Jonathan y col., 1989), con mayor liberación de PRL (Chuknyiska y col., 1986; Reymond y col., 1989 y 1990). El sistema TIDA está alterado en las ratas envejecidas (Cocchi y col., 1984; Fernández Ruiz y col., 1992; Rossi y col., 1992). Además, se ha comunicado que la concentración de dopamina sanguínea en el sistema portal pituitario estuvo descendida con la edad en ratas de ambos sexos (Gudelsky, 1981; Reymond y col., 1981). Se analizó la ritmicidad de la PRL sérica y del contenido de dopamina en la eminencia media durante 24 hs, hallándose un aumento de la PRL y un descenso de la dopamina en ratas envejecidas que provocó la interrupción de los mecanismos de regulación de la PRL (Esquifino y col., 2004).

La vulnerabilidad de las *neuronas dopaminérgicas* llevaría a un envejecimiento del eje lactotroco con aumento en la incidencia de la *enfermedad de Parkinson*. La dopamina modularía el estrés oxidativo a través del sistema renina-angiotensina a nivel de la sustancia nigra y del cuerpo estriado, mostrando una desregulación con la edad (Villar-Cheda y col., 2014). El envejecimiento se asocia a deficiencias en las *hormonas hipofisotróficas hipotalámicas (HHH)*, los *neurotransmisores*, la *pérdida neuronal*, el *descenso de los receptores* y los *procesos catabólicos* (Meites, 1992). La noradrenalina estimuló la liberación de la hormona luteinizante (LH), folículo-estimulante (FSH), hormona de crecimiento (GH) y tirotrófina

(TSH), mientras que la dopamina inhibió la liberación de prolactina (PRL) y TSH, pero promovió la liberación de GH (Weiner y Ganong, 1978). La dopamina actuaría directamente sobre la pituitaria para regular la liberación de PRL, mientras sus efectos sobre la liberación de GH, TSH, LH y FSH serían ejercidos por vía de las HHH.

La pérdida excesiva de *neuronas TIDA* durante el envejecimiento estuvo asociada a una progresiva *hiperprolactinemia* y a una mayor incidencia de *prolactinomas* en ratas hembras envejecidas (Ito y col., 1972; Kovacs, 1977; Berkvens y col., 1980; Sarkar y col., 1982; Chuknyiska, 1986; van Putten y col., 1988). Se consideró la posibilidad de una alteración de la función TIDA en ratas machos y una supersensibilidad de los receptores dopaminérgicos de las lactotropas, sustentada en un incremento del número de receptores sobre los sitios de unión (Govoni y col., 1980) que podría tener un rol en el descenso de la población lactotropa detectado en ratas viejas y seniles machos.

A nivel hipofisario el envejecimiento fue documentado desde el comienzo del siglo pasado por numerosos autores (Simmonds, 1914; Ascheleim y Zondek, 1927; Pribram, 1927; Lucien, 1929; Aschoff, 1937).

En nuestros estudios de envejecimiento hemos dado especial atención al segmento terminal de vida denominado **senescencia** y para ello, hemos diseñado un modelo experimental equivalente al envejecimiento de un ser humano de 80-100 años.

9.2 Envejecimiento celular y rejuvenecimiento epigenético

El **envejecimiento celular** está regulado por el *programa genético* y el *medio ambiente*. Uno de los factores externos de importancia es el *estrés* (Sapolsky, 1992a-b). El descenso de las señales hipotálamo-hipofisarias, la alteración de las glándulas endocrinas periféricas y el daño en los tejidos blanco hormono-dependientes, inducen a una declinación de la capacidad homeostática y aumentan la vulnerabilidad frente a los cambios ambientales (Strelher, 1977; Meites, 1991). Se crea una compleja *red homeostática* que emite y recibe señales bidireccionales, con un *reloj biológico* que se ubicaría a nivel hipotalámico (Samorajski, 1977).

La **clonación de animales** demostró que un *núcleo somático adulto implantado en un ovocito enucleado* puede dar lugar a un individuo completamente nuevo, sugiriendo que la integridad del genoma de un núcleo adulto está completamente preservada. El *desarrollo tecnologías de reprogramación celular* lograron el **rejuvenecimiento celular** mediante la **reprogramación celular** basada en genes pluripotenciales que pueden borrar las marcas epigenéticas del envejecimiento y rejuvenecer las células de las personas mayores. La desregulación epigenética progresiva puede ser el factor clave del envejecimiento de los organismos y desafía la visión convencional del envejecimiento como un proceso irreversible (López-León y Goya, 2018).

Es necesario comparar la **teoría del envejecimiento acumulativo de daño del ADN** y el **modelo epigenético del envejecimiento**, incluido el **reloj epigenético** de Horvath. El ajuste del reloj de envejecimiento en el cigoto de los mamíferos y los cambios en el reloj se hace a lo largo de las generaciones sucesivas.

Un estudio en fibroblastos cutáneos en centenarios sanos demostró que pueden rejuvenecerse mediante la reprogramación celular y un estudio *in vivo* informó sobre varios órganos de ratones progénicos viejos que pueden rejuvenecerse mediante una reprogramación parcial cíclica.

- **Teoría del envejecimiento acumulativo del daño al ADN:** postula que a medida que un animal envejece, las formas tóxicas de oxígeno generadas como subproductos mitocondriales inducen un daño aleatorio en los genes, lo que determina un deterioro celular progresivo.

- **Modelo epigenético del envejecimiento:** señala la existencia de *marcas epigenéticas* incrementadas con la edad que conducen a una desrepresión progresiva del ADN con expresión desregulada de genes y alteración de la función celular. Dicho modelo explica el rejuvenecimiento *in vivo* que evitaría que los individuos adultos envejecan, eliminando así un factor de riesgo de patologías al final de la vida y podría permitir el gradual rejuvenecimiento de todo el organismo. La *metilación del ADN* en sitios **CpG** específicos podría usarse como un biomarcador de edad de alta precisión definido por un algoritmo conocido como el *reloj de Horvath*. Fue en este punto donde el rejuvenecimiento epigenético entró en juego como una estrategia para revelar hasta qué punto se puede retrasar la edad biológica haciendo que el reloj marche

hacia atrás. Se propuso la existencia de un epigenoma bimodular, donde el **módulo A** representa el *componente del reloj ADN_m* y el **módulo B** el *resto del epigenoma*. El rejuvenecimiento epigenético parece ser la clave para detener o revertir el envejecimiento de los organismos (Chiavellini y col., 2021). En analogía con otros sistemas integradores como la red inmuno-neuroendocrina y los relojes circadianos, se planteó la hipótesis de una organización jerárquica en el control de la frecuencia del *reloj epigenético* dentro de un modelo jerárquico propuesto para el control del reloj en una perspectiva evolutiva (Lehmann y col., 2020;

La historia del rejuvenecimiento biológico comenzó con la clonación de ranas (Gurdon, 1962) y la clonación de mamíferos con el nacimiento de la oveja Dolly (Wilmst y col., 1997). El citoplasma del ovovito tendría factores de reprogramación que convertirían al núcleo somático en uno embrionario capaz de podría inducir el desarrollo de un nuevo organismo. Takahashi y Yamanaka (2006) demostraron que la transferencia de cuatro genes maestros, a saber: **oct4**, **sox2**, **klf4**, **c-myc** (**genes OSKM**), a fibroblastos de ratón adulto fueron capaces de reprogramarlos, llevando las células a una etapa de pluripotencial en la que se comportarían como células madre embrionarias. Así nació la **reprogramación celular**, un avance que allanó el camino para la posterior implementación del **rejuvenecimiento celular** cuyo primer estudio fue publicado por Lapasset y col. (2011). Se comunicó que las células de las personas mayores muestran una firma transcripcional típica, diferente de la de las contrapartes jóvenes (Mertens y col., 2015) y que los fibroblastos de donantes viejos tenían telómeros acortados (Sahin y Depinho, 2010), así como mitocondrias disfuncionales y niveles más altos de estrés oxidativo (Kudryavtseva y col., 2016). Para reprogramar los fibroblastos de donantes muy viejos, se agregaron los genes de pluripotencia **NANOG** y **LIN28** al cóctel de reprogramación **OSKM**. Esta combinación de seis factores reprogramó de manera eficiente los fibroblastos de donantes viejos en *células madre inducidas pluripotentes típicas* (**iPSC**). Estas células mostraron telómeros alargados y un metabolismo mitocondrial juvenil. Las iPSC se diferenciaron de nuevo en fibroblastos, cuyo perfil transcripcional, metabolismo mitocondrial, niveles de estrés oxidativo, longitud de los telómeros y potencial eran indistinguibles de los fibroblastos de sus homólogos jóvenes. Los datos revelaron que las células habían sido rejuvenecidas (**fig. 9.1**) (Hashizume y col., 2015; Goya y col., 2018).

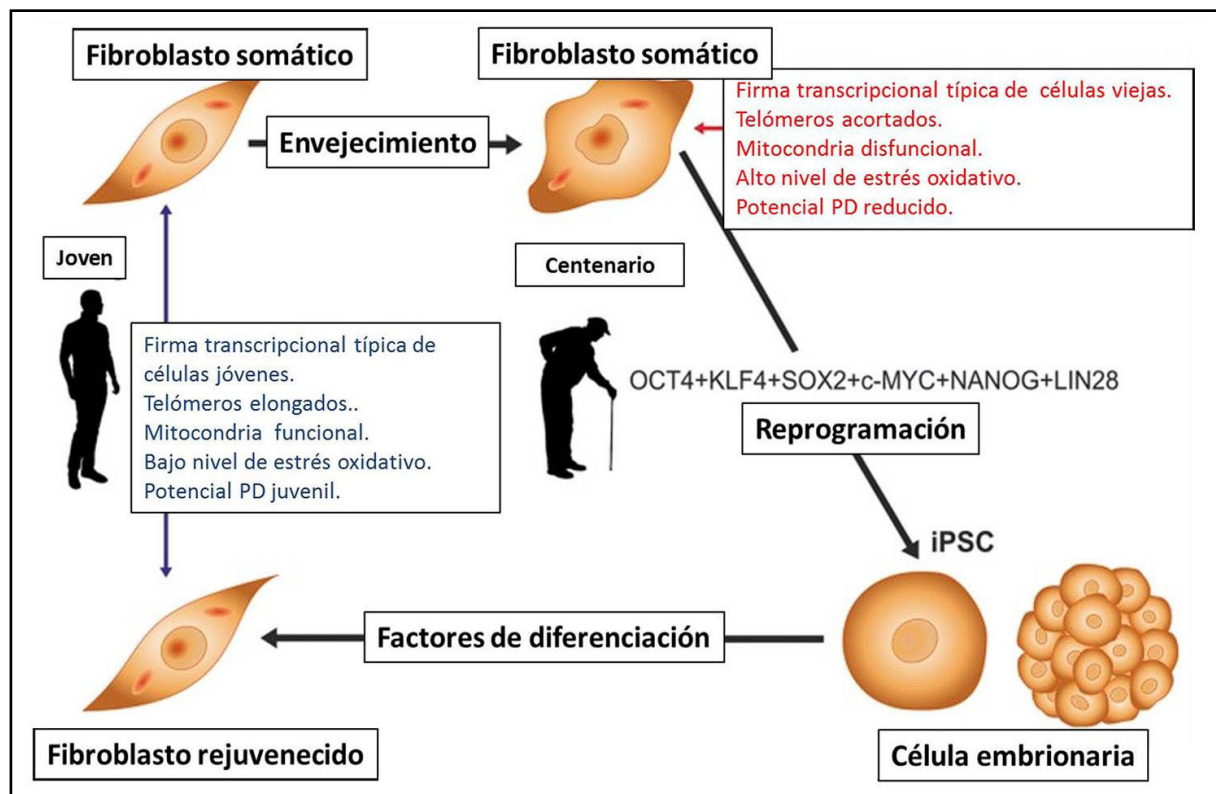


Fig. 9.1 Rejuvenecimiento por reprogramación celular de fibroblastos de individuos centenarios sanos (Goya y col., 2018).

Se comunicó que las *neuronas inducidas* generadas por reprogramación convencional y reprogramación directa mediada por factor de pluripotencia (PDR) se rejuvenecen, mientras que las neuronas inducidas generadas por transdiferenciación (también conocida como reprogramación de linaje (LR)) no lo son (López-León y col., 2017).

Se reprogramaron células T-CD8+ específicas de antígeno expandidas clonalmente de un paciente infectado por HIV-1 a pluripotencia. Las iPSC derivadas de células T se rediferenciaron luego en células T-CD8+ que tenían una alta capacidad proliferativa y telómeros alargados (Nishimura y col., 2013).

También se logró el rejuvenecimiento de las células madre hematopoyéticas (HSC) disfuncionales de ratones viejos reprogramándolos a la etapa iPSC y luego diferenciándolos de nuevo en HSC. Se encontró que las HSC rejuvenecidas de ratones viejos tenían el mismo desempeño funcional en la producción de diferentes linajes de células inmunes y eritroides que las HSC de ratones jóvenes normales (Wahlestedt y col., 2017). Se comunicó que la sobreexpresión del factor de pluripotencia **NANOG** en progenitores miogénicos progeroides o senescentes revirtió el envejecimiento celular y restauró por completo su capacidad para generar fuerza contráctil. El efecto fue mediado por la reactivación de las vías ROCK y TGF- β (Mistriotis y col., 2017).

Aunque las células extraídas de personas de edad avanzada podían rejuvenecerse por completo, el rejuvenecimiento *in vivo* no era posible, ya que se había demostrado que una expresión continua de los genes Yamanaka en animales causaba múltiples teratomas (Abad y col., 2013; Ohnishi y col., 2014). Sin embargo, se informó por primera vez que las células y los órganos pueden rejuvenecerse *in vivo* (Ocampo y col., 2016) (**fig. 9.2**) (Goya y col. 2018).

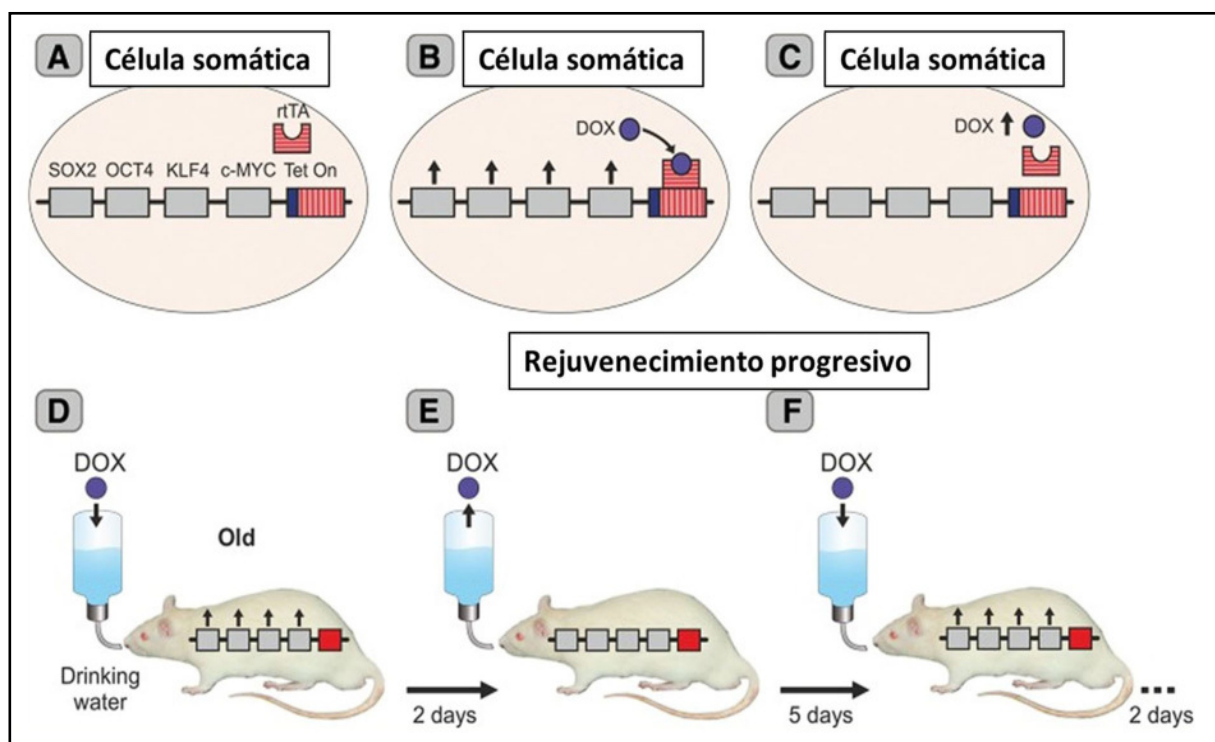


Fig. 9.2 Rejuvenecimiento *in vivo* (Goya y col., 2018).

El envejecimiento es la consecuencia de la acumulación progresiva de daño oxidativo en las macromoléculas celulares, en particular el ADN (Ames (1989; Campisi y Vijg, 2009). Se cree que es relevante en las mitocondrias, donde la respiración está asociada con una generación continua de formas reactivas de oxígeno (Harman (1956); van Remmen y Richardson, 2001). Según este modelo, el proceso es *irreversible* y solo puede ralentizarse mediante la *restricción de calorías* (Sohal y Weindruch, 1996).

Se ha demostrado que la rata topo desnuda, un pequeño roedor cuya vida media (28,3 años) es casi ocho veces más larga que la de los roedores de laboratorio, posee altos niveles de daño oxidativo en sus células incluso cuando los animales son jóvenes (Andziak y col., 2006; Buffenstein y col., 2008). Es pro-

bable que en condiciones ambientales con alta intensidad de radiaciones ionizantes y de luz UV, el daño del ADN se convierta en un factor determinante de la longevidad (**fig. 9.3**) (Goya y col., 2018).

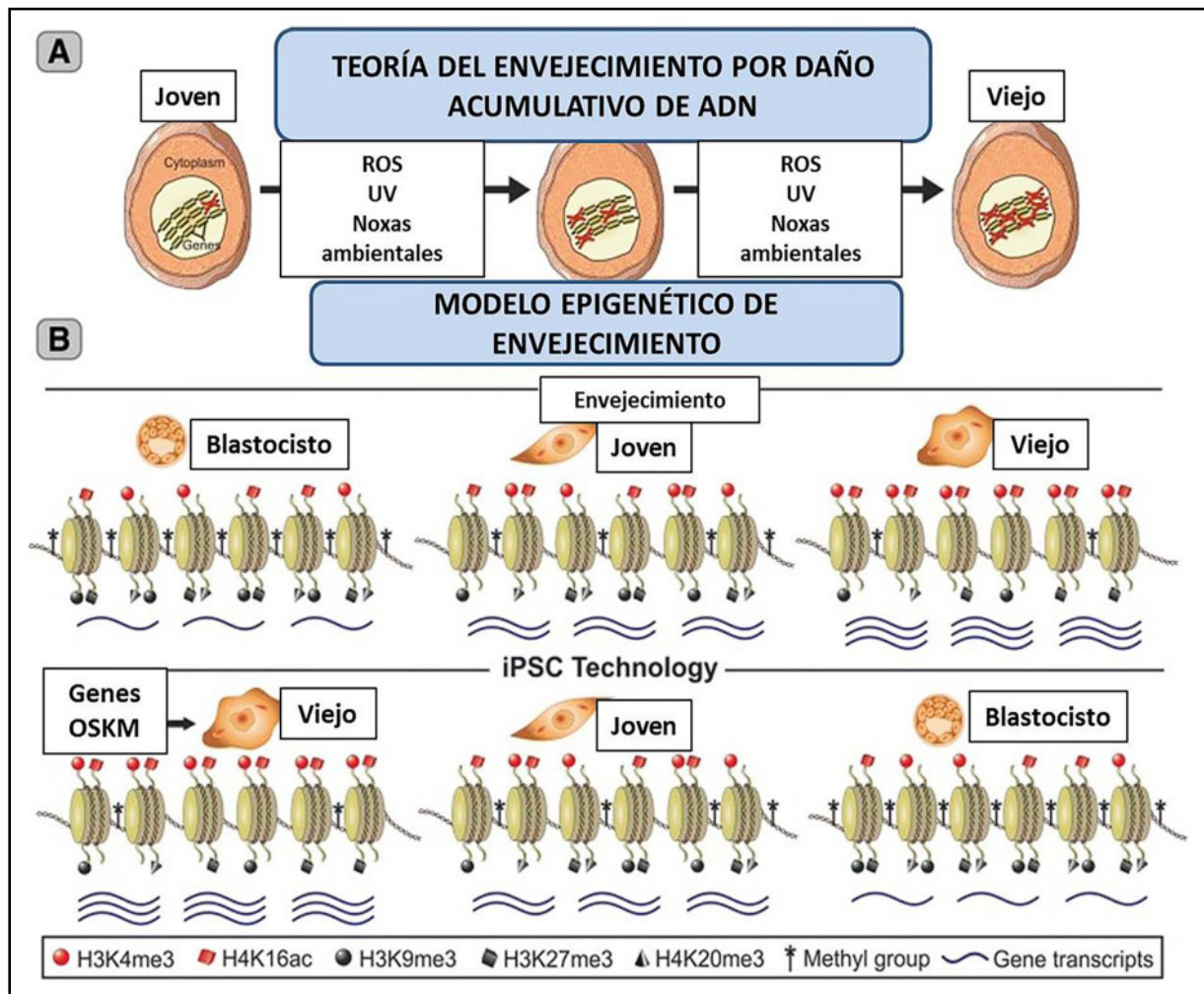


Fig. 9.3 Representación esquemática de la teoría del daño acumulativo del ADN y el modelo epigenético del envejecimiento (Goya y col., 2018).

a. Daño progresivo del ADN relacionado con la edad que tiene lugar en el genoma de las células debido a agresiones ambientales. ROS: especies reactivas de oxígeno.

b. Diagrama superior: muestra algunos de los cambios progresivos en la metilación y acetilación de las histonas H3 y H4 durante el envejecimiento normal. Los cambios en la metilación del ADN están representados por asteriscos en el ADN.

Diagrama inferior: se ven los cambios cronológicos que pueden ocurrir en las mismas marcas epigenéticas durante el rejuvenecimiento/desdiferenciación inducido por el gen **OSKM**.

Símbolos rojos: marcas de activación de cromatina.

Símbolos negros: marcas represoras de cromatina.

Líneas onduladas azules representan las transcripciones de genes.

La evidencia de que la reprogramación de células somáticas de individuos ancianos las rejuvenece hasta su etapa embrionaria está dando lugar a la idea de que el **epigenoma** es el motor central del envejecimiento y que el proceso es *reversible* (Ta y Chang, 2012). El envejecimiento parece estar asociado con una depresión progresiva de la actividad transcripcional de la cromatina, que se efectúa en parte por una reducción de la metilación del ADN; un descenso de las marcas represoras epigenéticas (H3K9me3, H3K27me3, H4K20me3), así como por un aumento en los niveles de marcas de activación en H3K4me3 y H4K16ac.

Un avance relevante para el modelo epigenético de envejecimiento es el descubrimiento de que el nivel de metilación relacionado con la edad de un conjunto de dinucleótidos de citidina-guanosina (**CpG**) ubicados en posiciones precisas en todo el genoma constituye un *biomarcador de envejecimiento* confiable.

El **reloj epigenético**, ideado por Horvath (2013), utiliza el estado de metilación dependiente de la edad de 353 **CpGs** ubicados en posiciones precisas a través del genoma humano y genera un número

en años que representa la *edad epigenética*. En los seres humanos, la edad epigenética generada por este predictor muestra una correlación de 0,96 con la edad cronológica y un margen de error de 3,6 años. El **reloj epigenético** predice la edad biológica con una precisión alta comparable cuando se aplica al ADN extraído de sangre total, células mononucleares de sangre periférica, corteza occipital, epitelio bucal, colon, tejido adiposo, hígado, pulmón, saliva y cuello uterino. La tasa es muy alta en los seres humanos desde el nacimiento hasta el año de edad; de 1 a 20 años se desacelera progresivamente; ya partir de los 20 años, cambia a un ritmo mucho más lento (Raj, 2018).

Existe evidencia de que la genética es el principal controlador de la tasa de envejecimiento epigenético. Por ejemplo, se sabe que la tasa de envejecimiento epigenético es más lenta en supercentenarios y sus descendientes (Horvath y col., 2015).

De acuerdo con el modelo epigenético de envejecimiento, cuando un humano de 30 años (Horvath, 2013) y un ratón de 2 meses (Petkovich y col., 2017) las células somáticas son reprogramadas a **iPSC** por los **factores de Yamanaka**, su edad epigenética vuelve a cero años o meses, respectivamente.

La teoría del reloj epigenético plantea la hipótesis de que el envejecimiento biológico es una consecuencia involuntaria de los programas de desarrollo y mantenimiento epigenético para los que las huellas moleculares dan lugar a estimadores de edad de *metilación del ADN (ADNm)* (Horvath y Raj, 2018).

La concepción de un nuevo individuo implica la génesis de un organismo completamente joven que no hereda ningún rasgo de envejecimiento de sus padres, después de la concepción. Según la teoría del daño acumulativo del ADN, cuando una pareja humana hipotética, de 25 años de edad cada miembro, concibe un nuevo individuo, el daño del ADN acumulado en el genoma de sus células germinales durante 25 años es probablemente mínimo pero superior a cero.

Por lo tanto, el nuevo cigoto debería heredar ese daño mínimo y no sería completamente joven. Según el modelo epigenético, el cigoto concebido por la misma pareja tendría su reloj epigenético puesto a cero por los factores de reprogramación presentes en el citoplasma de esa célula.

Esta hipótesis se basa en el hecho de que cuando las células somáticas adultas humanas o de ratón se reprograman a **iPSC**, su edad epigenética se restablece virtualmente a cero (Horvath, 2013; Petkovich y col., 2017) (**fig. 9.4**) (Goya y col., 2018).

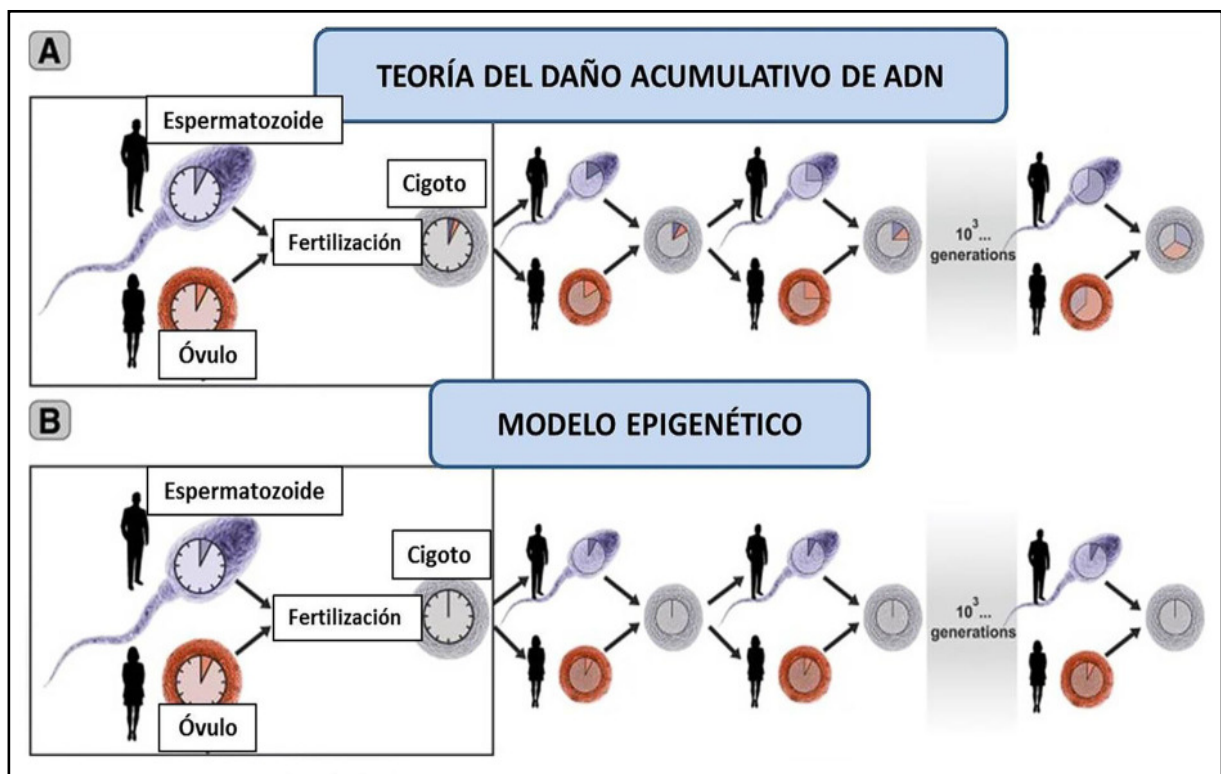


Fig. 9.4 Teoría del daño acumulativo de ADN y modelo epigenético. (Goya y col., 2018).

Si bien cada individuo de una especie de metazoos envejece, la vida animal compleja se ha mantenido viable durante cientos de millones de años. Es probable que las células germinales sufran cierta acumulación de daño del ADN a pesar de que el ADN está altamente protegido en este tipo de células. Dado que la vida animal compleja surgió hace unos 550 millones de años (Dawkins y Wong, 2016) la enorme cantidad de generaciones de células germinales que tuvieron lugar durante los milenios sucesivos durante los cuales evolucionaron muchas especies animales complejas debería haber acumulado cantidades cada vez mayores de daño en el ADN que serían heredadas por los cigotos que concibieran. Este daño acumulado en el ADN debería hacer que las especies animales complejas se debiliten progresivamente y se extingan, lo que no es el caso. Según el modelo epigenético, en el momento de la fertilización, todas las marcas epigenéticas del envejecimiento de los padres se borran del genoma del cigoto, restableciendo su reloj de envejecimiento a cero. Por lo tanto, en cada generación, el reloj epigenético de cigotos se reiniciará desde cero, lo que permite que las complejas especies animales prosperen y se diversifiquen a lo largo de los milenios.

Además de demostrar que los genes **OSKM** son capaces de rejuvenecer parcialmente células y órganos en ratones, Ocampo y col (2016) utilizaron ratones transgénicos no progeroides de 12 meses de edad. La *reprogramación parcial cíclica* mejoró la capacidad regenerativa de su páncreas y músculo esquelético, que de otro modo sería deficiente. La inducción cíclica transitoria de **OSKM** desencadenó la proliferación de células β en el páncreas y células satélites en el músculo esquelético, que son críticas para el mantenimiento de la homeostasis, pero cuyo número suele disminuir con la edad. Por lo tanto, los beneficios de la reprogramación parcial cíclica pueden ir más allá del rejuvenecimiento de animales viejos; también podría constituir un tratamiento regenerativo eficaz (de Lázaro y col., 2017). La *reprogramación celular parcial* es una vía emergente de investigación. El rejuvenecimiento por reprogramación es un subcampo joven pero en rápida expansión en la biología del envejecimiento (de Lima y Quinlan, 2021).

Figura 9.5: se muestra el *modelo de epigenoma modular* para explicar los resultados del rejuvenecimiento *in vivo*. Se considera un epigenoma bimodular, donde el **Módulo A** representa el componente del **reloj de ADN_m** (m: metilado) que abarca todas las marcas epigenéticas de metilación del ADN dependientes de la edad.

- **Diagrama superior (ruta 1):** propone que *ex vivo*, la reprogramación convencional borra todas las marcas de identidad celular y de edad de ambos módulos, y puede convertir una neurona vieja (el color marrón representa vieja) o cualquier otra célula, en una **iPSC** que luego se puede diferenciar nuevamente en una neurona rejuvenecida (el azul representa joven). *In vivo*: la expresión continua de los genes **OSKM** conduce a la génesis de múltiples teratomas y la muerte del animal.

- **Diagrama del medio (ruta 2):** ilustra la hipótesis de que varios ciclos de reprogramación parcial pueden rejuvenecer progresivamente las células borrando todas las marcas epigenéticas de la edad sin afectar las marcas de identidad del tipo celular. Esto significa que, en principio, la estrategia podría conducir a un importante rejuvenecimiento del fenotipo *in vivo*.

- **Diagrama inferior (ruta 3):** ilustra un resultado alternativo para la reprogramación parcial. En este caso, la reprogramación parcial borra las marcas de edad del reloj de ADN_m (módulo A) pero evita las marcas de edad del módulo B. Este resultado es compatible con un restablecimiento importante de la edad de ADN_m pero con un rejuvenecimiento parcial del fenotipo.

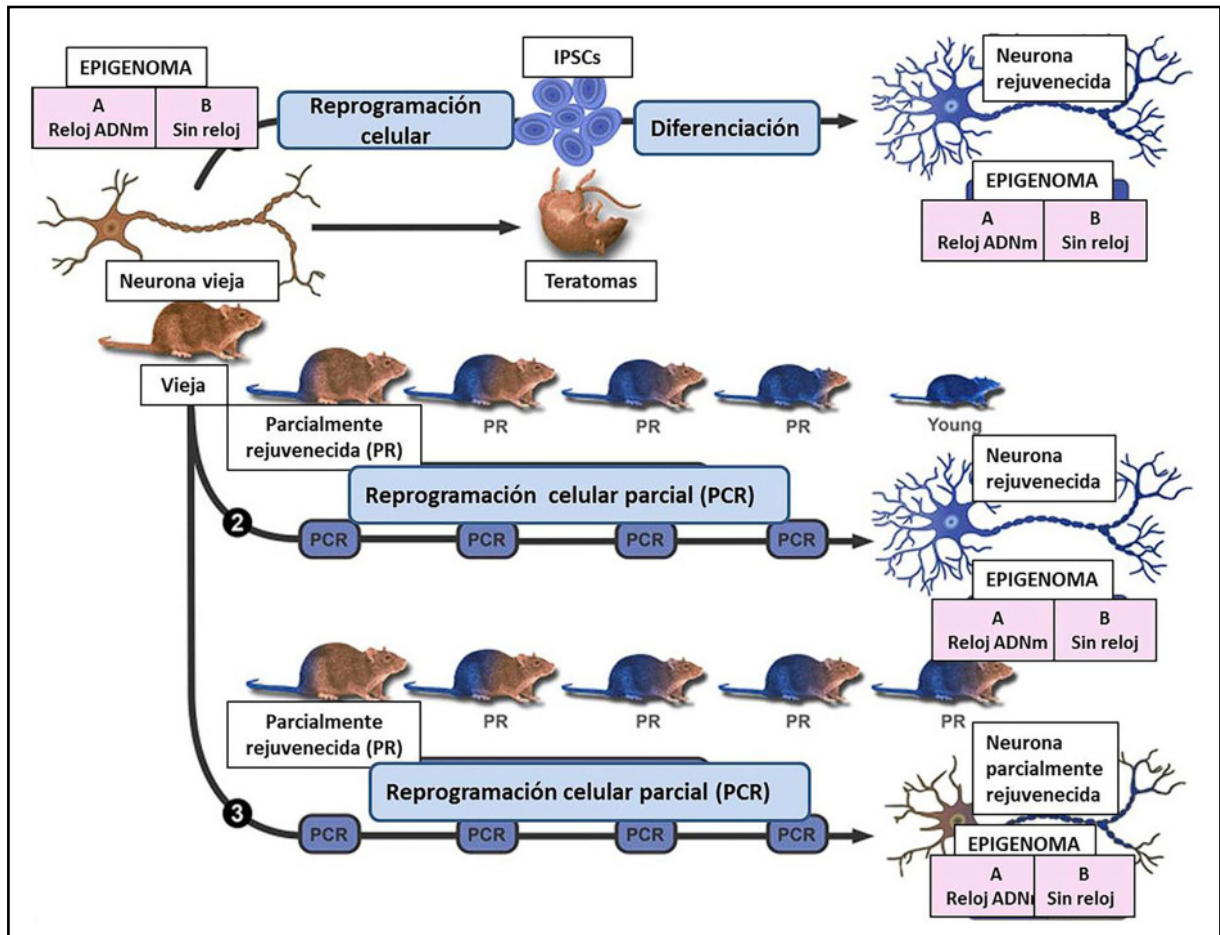


Fig. 9.5 Reprogramación celular parcial (PCR)

En la **figura 9.6** se observan los cambios morfológicos inducidos por la acción del gen **OSKM** a largo plazo en células perivasculares del cordón umbilical humano (HUCPVC) (Chiavellini y col., 2021).

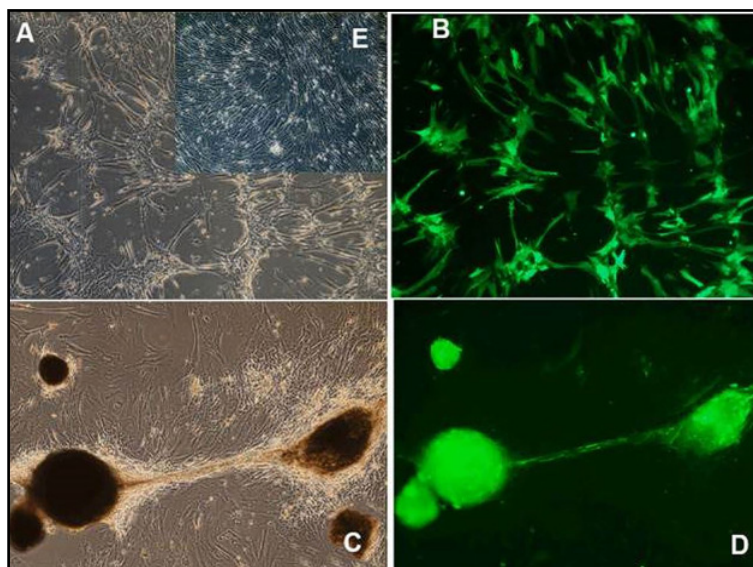


Fig. 9.6 Cambios morfológicos (Chiavellini y col., 2021).

- A)** HUCPVC incubado durante 7 días con un adenovector que expresa un polisistrón que alberga genes OSKM y GFP (contraste de fases).
- B)** El mismo campo observado bajo microscopía de fluorescencia.
- C)** HUCPVC incubado durante 85 días con el adenovector OSKM-GFP anterior. (contraste de fases).
- D)** El mismo campo que en **C**, observado bajo microscopía de fluorescencia.

9.3 Población lactotropa envejecida

En la **fig. 9.7** se ven áreas de lactotropas inmunomarcadas en ratas hembras jóvenes (3 meses), viejas (20 meses) y seniles (29 meses). En la rata senil puede observarse un *microprolactinoma cromóforo* con algunas lactotropas teñidas de rojo (red) (Cónsole y col., 1997). Este hallazgo se halla en concordancia con lo comunicado por la mayoría de los autores acerca de la presencia de adenomas pituitarios coexistentes con altos niveles de PRL sérica (Rossi y col., 1992; Mc Comb y col., 1984; Voogt y col., 1990).

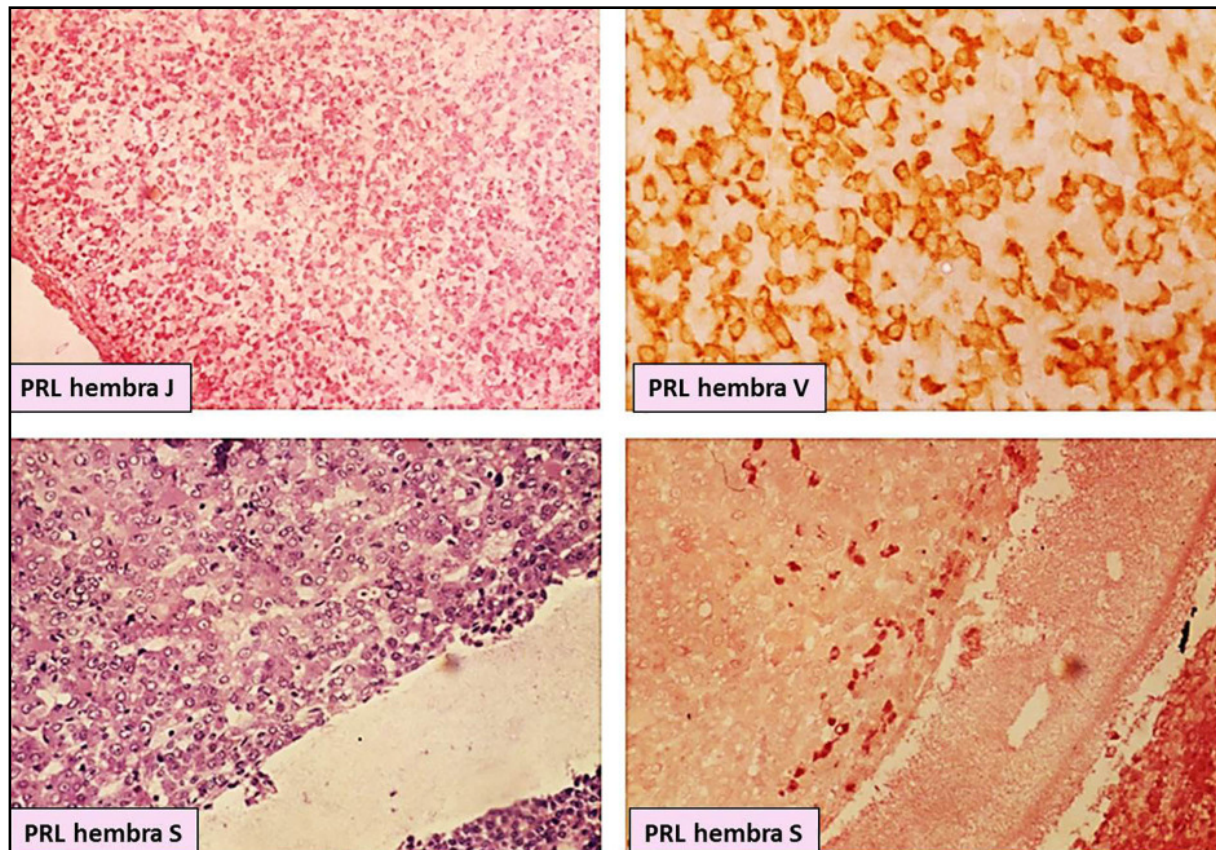


Fig. 9.7 Lactotropas. Ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) hembras con microprolactinoma (H-E, EnVision anti-PRL con red, x 400) (Cónsole y col., 1998).

La ausencia de inmunorreactividad en los prolactinomas cromóforos estaría asociada ya sea a una rápida liberación de la PRL sin un depósito detectable de hormona (Kovacks y col., 1977; Mc Comb y col., 1984) o a la presencia de isoformas de PRL no reconocibles por el antisuero anti-PRL (Rogol y Rosen, 1974; Lawson y col., 1980). Las áreas de hiperplasia lactotropa en ratas seniles permiten explicar los elevados niveles plasmáticos de PRL.

Se cuantificaron las lactotropas en pituitarias de ratas machos en diferentes edades durante la vida media y se halló un incremento en la densidad de volumen (DV) seguido de un descenso de tal parámetro luego del 50% de la edad de supervivencia (van Putten y col., 1988). Este hallazgo está de acuerdo con resultados previos en ratas seniles, en los que no hubo cambios en los niveles de PRL (Cónsole y col., 1997).

Rossi y col. (1991) documentaron sólo un ligero aumento de la PRL inmunorreactiva en pituitarias de ratas machos de 20 a 22 meses, mientras Takahashi y Kawashima (1983) no hallaron ningún cambio significativo en la población lactotropa en ratas machos de 20 meses de edad.

En agregado, Drewet y col. (1993) mostraron en ratas machos un incremento de la apoptosis en la hiperplasia lactotropa inducida mediante estrógenos. Las alteraciones morfológicas en la población lactotropa en ratas seniles podría explicarse por una desensibilización de la pituitaria a las nucleoproteínas y a otras moléculas hipofisotróficas (Brown y col., 1996).

Nuestro análisis morfométrico reveló cambios en relación con la edad en ratas de ambos sexos, con un claro dimorfismo sexual. Los parámetros morfométricos fueron evaluados sólo en las áreas hiperplásicas, ya que la reacción cromofóbica de los adenomas no permitió detectar inmunomarcación. La densidad de células (DC) y la densidad de volumen (DV) mostraron una significativa ($p < 0.01$) reducción en ratas hembras viejas, pero este parámetro aumentó ($p < 0.01$) en animales hembras seniles. Ni el área (A), ni el perímetro (P) celulares mostraron una variación significativa en los grupos experimentales estudiados (Cónsole y col., 1998) (**cuadro 9.1**).

Cuadro 9.1. Morfometría de la población lactotropa

Cuadro 9.1	Joven (n = 10)	Vieja (n = 9)	Senil (n = 8)
DV ($\times 10^{-3}$)			
Machos	122 (± 7) (a)	94 (± 5) (b)	46 (± 3) (c)
Hembras	141 (± 6) (d)	131 (± 5) (e)	196 (± 6) (f)
DC ($\times 10^{-4}$)			
Machos	86 (± 2) (a)	46 (± 2) (b)	14 (± 1) (c)
Hembras	110 (± 5) (d)	88 (± 3) (e)	189 (± 4) (f)

DV: Valores p intragrupos: a vs. b and b vs. c: < 0.01 ; d vs. e: NS; e vs. f: $p < 0.01$. Valores p intergrupos DV: a vs. d: NS; b vs. e and c vs. f: $p < 0.01$. **DC:** Valores p intragrupos: a vs. b, b vs. c, d vs. e and e vs. f: < 0.01 . Valores p intergrupos: a vs. d: < 0.05 ; b vs. e: $p < 0.01$; c vs. f: $p < 0.01$. Valores: \pm ES (Cónsole y col., 1998).

Se han registrado resultados contradictorios en los niveles séricos de PRL en ratas machos envejecidas (Shaar y col., 1975; Takahashi y col., 1980; Gudelsky y col., 1981). Los niveles séricos incrementados (Simpkins y col., 1977; Takahashi y col., 1980; Gudelsky y col., 1981), así como los no cambiados (Shaar y col., 1975; Rigle y Meites, 1976; Van Putten y col., 1988) han sido comunicados en ratas machos durante el envejecimiento.

En los animales seniles hembras hallamos altos niveles de PRL ($p < 0.01$) respecto a ratas jóvenes (Bolzán y col., 1997) (**fig. 9.8**).

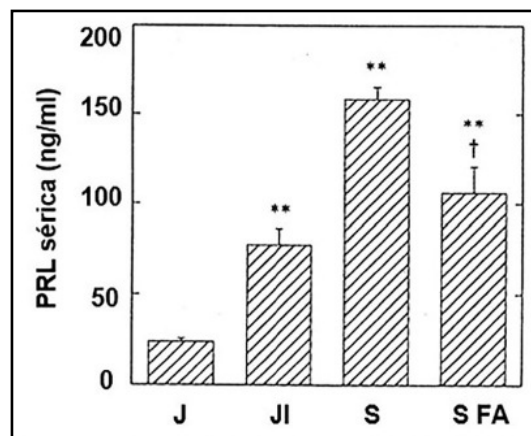


Fig. 9.8 Niveles séricos de PRL. J: joven, JI: joven injertada, S: senil, S FA: senil con fibroadenoma, ** $p < 0.01$ (Bolzán y col., 1997).

La microscopía electrónica ha permitido describir en las lactotropas dos subtipos de gránulos secretorios (Smets y col., 1987; Girod y Trouillas, 1993) o más de dos (Nogami and Yoshima, 1982 y 1984; Takahashi, 1992). La proporción relativa de cada subtipo estaría asociada con los diferentes estadios del ciclo secretorio. Takahashi (1992) observó tres tipos de células lactotropas en la pituitaria de rata, sobre la base de estudios de inmunohistoquímica electrónica. Lactotropa **Tipo I:** los gránulos secretorios aparecieron irregulares en forma y tamaño (300-700 nm). Lactotropa **Tipo II:** gránulos secretorios redondos y

de tamaño intermedio (150-250 nm). Lactotropa **Tipo III**: gránulos secretorios redondeados y pequeños (100 nm). El Tipo I es considerado como un estadio celular maduro y predominó en las ratas jóvenes y de edad media; el Tipo II correspondería a un estadio celular intermedio y el Tipo III se asociaría con un estadio inmaduro que aumenta con la edad. En nuestro estudio ultraestructural las lactotropas de ratas jóvenes de ambos sexos exhiben células poligonales con numerosos gránulos secretorios pleomórficos en un rango de 100-600 nm (Cónsole y col. 1998). En concordancia con lo documentado por Takahashi (1982 y 1992), nuestro estudio IHQ ultraestructural revela dos tipos celulares de lactotropas.

Fig. 9.9: Golgi, RER con sacos aplanados, mitocondrias, lisosomas y ribosomas libres.

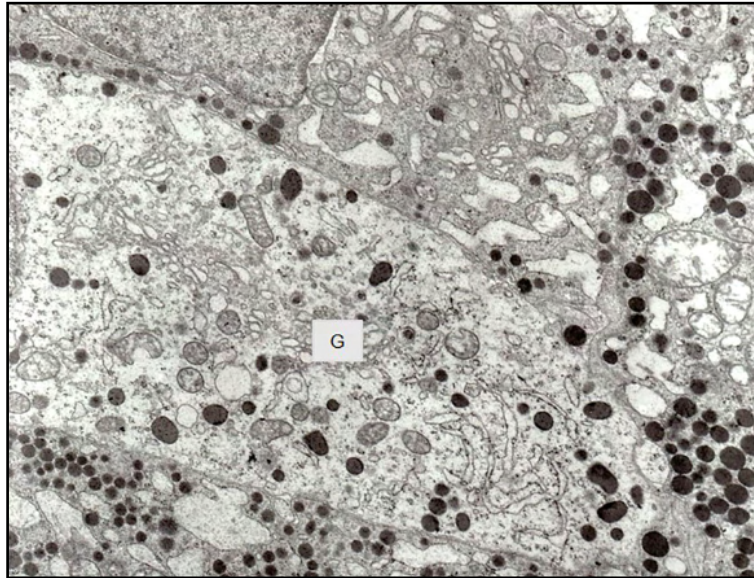


Fig. 9.9 Lactotropa de rata macho joven: Golgi (g) (x 16.000) (Cónsole y col. 1998).

La **fig. 9.10** muestra una lactotropa Tipo I con gránulos secretorios grandes (200-600 nm). El Tipo II presenta gránulos secretorios de menor tamaño (100-200 nm). El Tipo I (maduro) fue más frecuente en las ratas jóvenes, mientras el Tipo II predominó en los animales viejos y seniles (Cónsole y col., 1998).

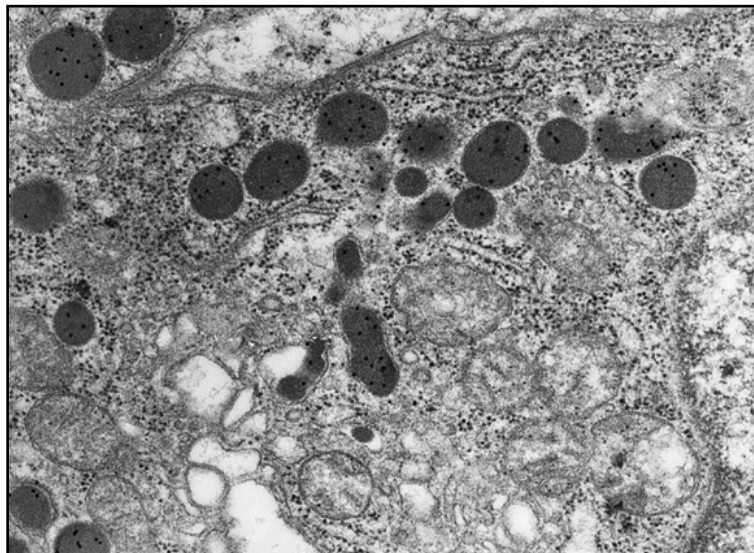


Fig. 9.10 PRL tipo I de rata macho joven. IHQ-ME con partículas de oro (x 40.000). (Cónsole y col., 1998).

La **fig. 9.11** muestra lactotropas de tipo I y II en la misma microfotografía. Se puede apreciar la diferencia en el tamaño de los gránulos secretorios inmunomarcados portadores de partículas de oro. Tipo I: 200-600 nm y tipo II: 100-200 nm.

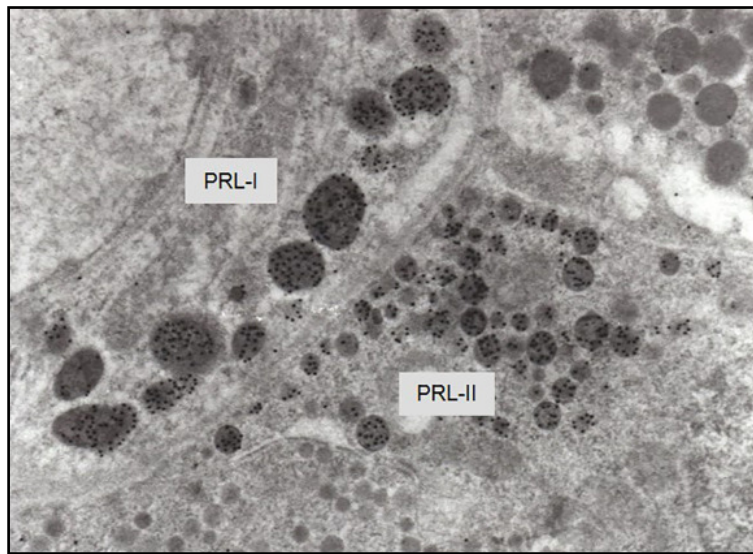


Fig. 9.11 Lactotropas: PRL tipos I y II de rata hembra joven. IHQ-ME con partículas de oro. (x 30.000) (Cónsole y col., 1998).

En las ratas viejas de ambos sexos hallamos cambios marcados en el 75% de la población lactotropa, con un complejo de Golgi muy extendido y dilatado en el que se detectaron gránulos inmaduros. El RER mostró cisternas aplanadas irregularmente dilatadas y ribosomas libres. Los gránulos secretorios aparecieron en menor número y predominaron los de tamaño mediano a pequeño.

Se hallaron algunas lactotropas involutivas: células oscuras con núcleo irregular y cromatina condensada. Ratas hembras viejas: la **fig. 9.12** muestra una célula involutiva oscura, con núcleo irregular y en la **fig. 9.13** se ve una célula hipertrófica con Golgi dilatado y RER vesiculoso (Cónsole y col., 1998).

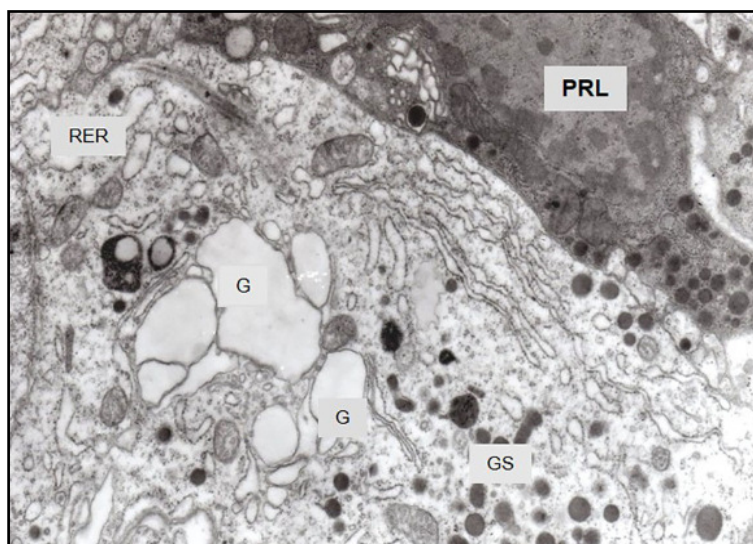


Fig. 9.12 Lactotropa de rata hembra vieja. Gránulos secretorios (GS), RER y Golgi (G) dilatados. PRL involutiva oscura, núcleo irregular (x 23.000) (Cónsole y col., 1998).

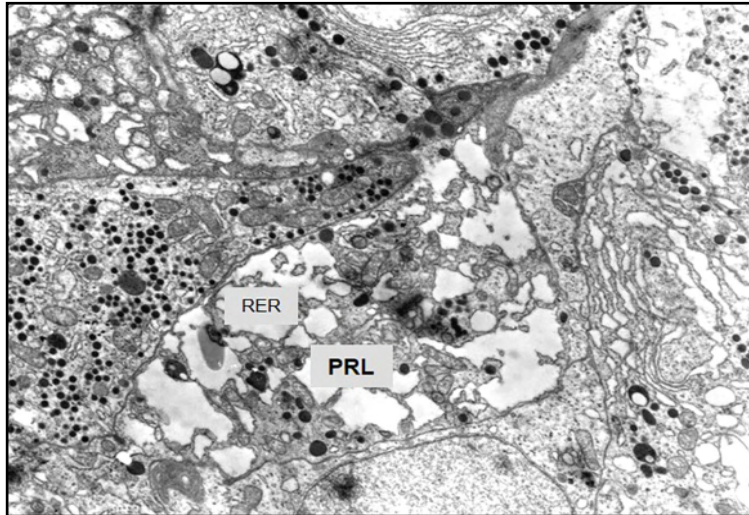


Fig. 9.13 PRL rata hembra vieja. RER dilatado y escasos gránulos secretorios (x 15.000)

La **fig. 9.14** muestra una lactotropa muy involutiva (Cónsole y col., 1998).

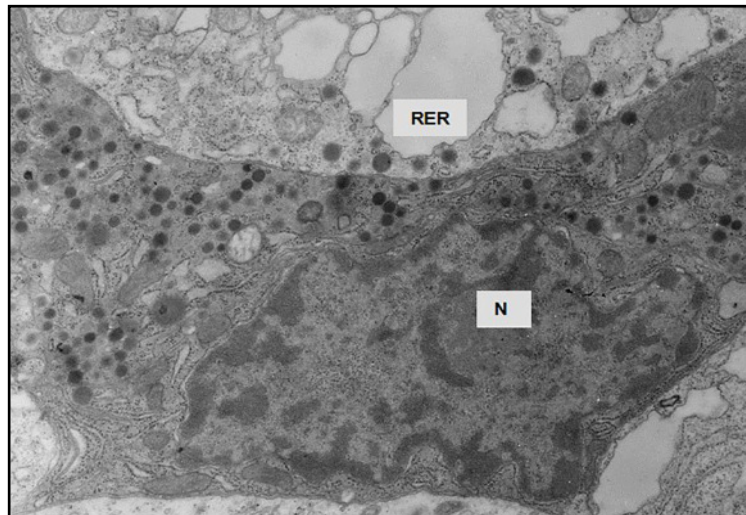


Fig. 9.14 PRL de rata hembra vieja. RER dilatado y PRL oscura involutiva (x 20.000)

Fig. 9.15: lactotropa de rata senil con RER dilatado y mitocondrias (m) tumefactas. Un núcleo queda aislado entre islas irregulares del RER dilatado.

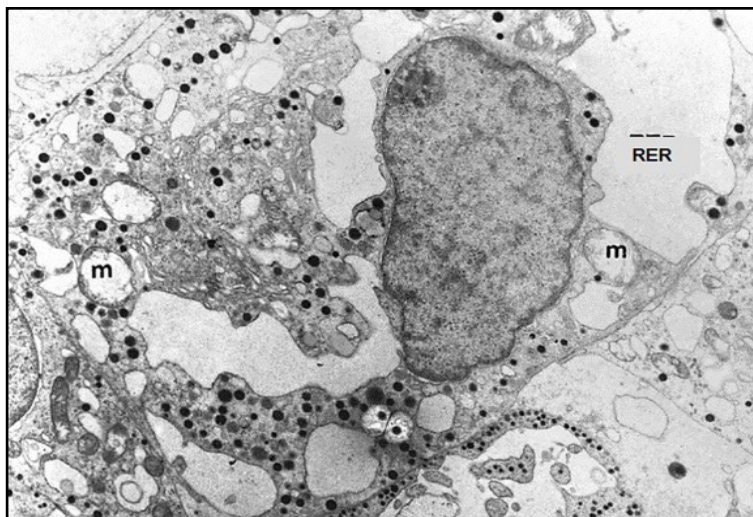


Fig. 9.15 PRL de rata macho senil. RER y mitocondrias tumefactas (m) (x 10.000).

En la **fig. 9.16** se observa una lactotropa de rata senil con mitocondrias tumefactas y RER dilatado (Cónsole y col., 1998).

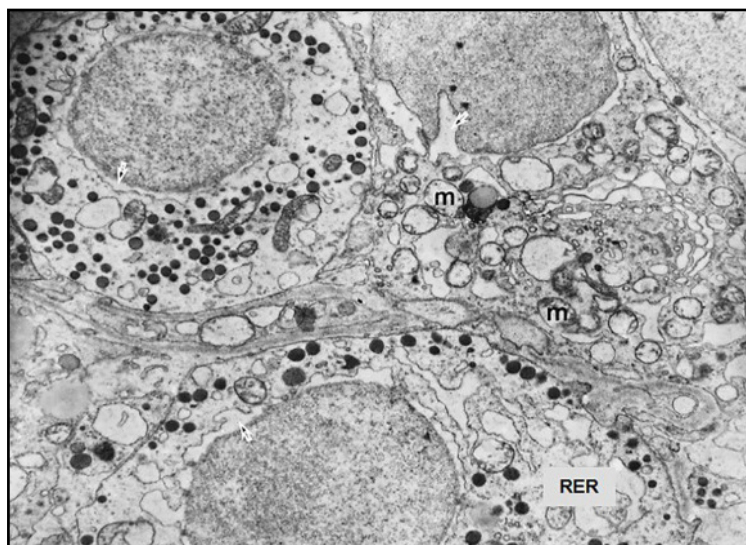


Fig. 9.16 Lactotropa de rata macho senil. RER dilatado con cisterna perinuclear y mitocondrias tumefactas (m) (x 16.000) (Cónsole y col., 1998).

Torres y Aoki (1987) comunicaron la presencia de una isoforma de PRL polimérica (alto PM) que sería depositada en los gránulos secretorios vecinos a la membrana, mientras la isoforma monomérica (bajo PM) representaría una hormona recién sintetizada que se ubica a nivel de los organoides. Estos autores describieron tres patrones secretorios en las lactotropas:

1. Estimulación: la síntesis y secreción está aumentada y la mayor parte de la PRL polimérica es liberada por los gránulos secretorios mediante exocitosis.

2. Inhibición o bloqueo: es la acumulación de gránulos secretorios con PRL monomérica y liberación basal por exocitosis.

3. Hiperestimulación: la PRL monomérica es secretada en grandes cantidades, sin almacenamiento dentro de los gránulos, mientras la forma polimérica es liberada por exocitosis. Este patrón lleva a la hipertrofia del RER y del complejo de Golgi. Los cambios ultraestructurales hallados en la población lactotropa de ratas viejas y seniles de ambos sexos podrían reflejar el patrón secretorio de hiperestimulación descrito por Torres y Aoki, con una remarcable hipertrofia del RER y del complejo de Golgi, un número disminuido de gránulos secretorios y escasos perfiles exocíticos.

En conclusión, el envejecimiento en *etapa de senescencia* causó cambios IHQ cuantitativos bien definidos en la población lactotropa con dimorfismo sexual, un ascenso en los niveles séricos de PRL y alteraciones ultraestructurales que explicarían un patrón secretorio de hiperestimulación.

9.4 Población somatotropa envejecida

La edad determina un descenso en la secreción de *neurotransmisores* y un *disbalance* en la síntesis hipotalámica de la hormona liberadora de GH (**GHRH**) e inhibidora de GH (**somatostatina, GIH**). La GH es clave en el crecimiento posnatal y en el control del metabolismo corporal. La disminución de los niveles de dopamina y noradrenalina causó una reducción de la secreción pulsátil de GH en ratas machos viejas (Sonntag y col., 1983), con un incremento en la secreción de GIH a nivel de la eminencia media (Sonntag y col., 1985 y 1988). En agregado, las pituitarias de ratas envejecidas fueron más sensibles a los efectos inhibitorios de la GIH (Spik y Sonntag, 1989). Morimoto y col. (1988) comunicaron que la síntesis/liberación de GHRH en neuronas disminuye en ratas envejecidas y Müller y col. (1993) detectaron cambios en las neuronas catecolaminérgicas/acetilcolinérgicas que determinaron una relación alterada entre GHRH y GIH en ratas viejas. Finalmente, la respuesta reducida de la GH a la GHRH detectada con

la edad en mamíferos fue atribuída en parte a una lesión intrínseca en las células somatotropas, con un posible *control colinérgico hipotalámico* como factor determinante (De Gennaro Colonna y col., 1989).

Numerosos factores biológicos y ambientales impactan en la duración de la vida. La **GH** y el factor de crecimiento insulino-símil tipo I (**IGF-I**) han estado a la vanguardia para investigar el proceso de envejecimiento mediante ingeniería genética. El envejecimiento estaría regulado por genes que codifican proteínas a partir del eje somatotropo. Cuando hay baja en la regulación del eje se entelrece el envejecimiento y cuando se administra GH sintética se podrían restaurar algunos rasgos fenotípicos relacionados con la juventud (Holzenberger, 2004a). La inactivación de IGF-I puede ampliar la duración de la vida y el aumento de la esperanza de vida en ratones mutantes podría basarse en la resistencia al estrés oxidativo (Holzenberger, 2004b). Los efectos moduladores de la genética se demostraron al detectar la prolongación de la vida en ratones enanos Snell y knockout. Xu y col. (2014) clarificaron el efecto de la mutación genética del receptor de IGF-I (**RIGF-I**) en la longevidad de diferentes cepas de ratones. La inactivación del **RIGF-I** extendió la vida útil de los ratones hembras, pero no queda claro si esta mutación produce efectos similares en otros contextos genéticos. En ratones con envejecimiento prematuro, por alteraciones en la transcripción génica que regula el eje somatotropo, se hallaron altos niveles de GH y drástica reducción del IGF-I. El tratamiento con IGF-I recombinante fue restaurador y esto podría aplicarse en los síndromes progeroides humanos asociados a alteraciones de la envoltura nuclear (Mariño y col., 2010). Se han comunicado cambios histopatológicos en las hipófisis de ancianos con aumento de fibrosis y descenso de la población somatotropa, asociado a un aumento de las células **S100+** (Ishikawa y col., 2005).

La hipofunción del eje **GH/IGF-I** en el envejecimiento lleva a la **somatopausia** con implicancias clínicas, ya que representaría una esperanza de vida prolongada que sustenta la intervención de las drogas anti-envejecimiento (Giordano y col., 2005; Junnila y col., 2013). Los altos niveles séricos de GH en animales longevos se asociaron con mayor tamaño corporal, pubertad precoz, senescencia reproductiva y alta incidencia de neoplasias (Brown-Borg, 2007 y 2009). Los ancianos muestran somatopausia con descenso de la **GHRH** en hombres de mediana edad y la respuesta plasmática de la **GH** fue significativamente más baja (30, 60 y 90 min). Esto permitió ratificar que las somatotropas se volvieron menos sensibles a la **GHRH** durante el envejecimiento. Se abriría la posibilidad de un uso terapéutico de la **GHRH** en lugar de GH recombinante humana, si bien debería tenerse en cuenta la acción de estas moléculas sobre la tumorigénesis y la promoción del crecimiento tumoral (Iovino y col., 2011).

El tamaño corporal reducido y la menor fertilidad pueden ser vistos en ratones con deficiencia de GH o GH-resistentes. Además, se detectó que los ratones mutantes en un gen de GH retrasan el envejecimiento (Bartke y col., 2013; 2016). La GH indujo acciones metabólicas periféricas directas y mediadas por IGF-I. Se ha demostrado que la GH intrapituitaria actúa como un interruptor de la apoptosis en la senescencia mediada por **p53**, pero ejercería en las células no pituitarias una *acción anti-apoptótica* (Chesnokova y col., 2013). El eje GH-IGF-I ha sido reconocido como fundamental para el estudio de la longevidad. Los ratones GH transgénicos presentaron vida corta, mientras que la falta de GH o IGF-I amplió la longevidad. Los estudios de proteómica en plasma indicaron la sobreexpresión crónica de GH o su falta completa. Dicho enfoque en cepas transgénicas y ratones knockout abre nuevas líneas de investigación en el envejecimiento (Ding y col., 2013). Los miméticos de la GH, en especial la grelina, constituyen un tratamiento potencial para la prevención del deterioro músculo-esquelético con la edad, pero se requieren más investigaciones para su aplicación (Nass, 2013). La somatopausia con descenso de GH/IGF-I estuvo asociada a la pérdida de la vitalidad, descenso de la masa muscular, mayor fragilidad ósea, adiposidad central, complicaciones cardiovasculares y deterioro de la función mental. El agonista **GHRH** restauró la pulsatilidad y amplitud de los pulsos de la GH, redujo la grasa visceral y mejoró la función cognitiva (Sattler, 2013). En la somatopausia, el IGF-I bioactivo tiende a disminuir menos que el IGF-I total, por lo que no sería un mejor biomarcador de envejecimiento que el IGF-I total (Vestergaard y col., 2013).

Se han comunicado estudios IHQ cuantitativos a nivel de la pituitaria anterior en ratas viejas (Spik y Sonntag, 1989), pero ningún intento ha sido hecho para cuantificar los cambios progresivos que ocurren en las somatotropas de ratas hembras y machos a lo largo de todo el proceso de envejecimiento, en especial en estadios avanzados de senescencia.

En nuestro estudio, las somatotropas exhibieron un patrón citoplasmático bien definido y una distribución homogénea en todas las secciones de la *pars distalis*. La población somatotropa mostró variacio-

nes asociadas a la edad y al sexo. Se halló un descenso en el número de somatotropas en animales viejos y seniles en relación a los jóvenes, pero esta disminución fue más marcada en hembras respecto a machos (fig. 9.17) (Cónsole y col., 1993).

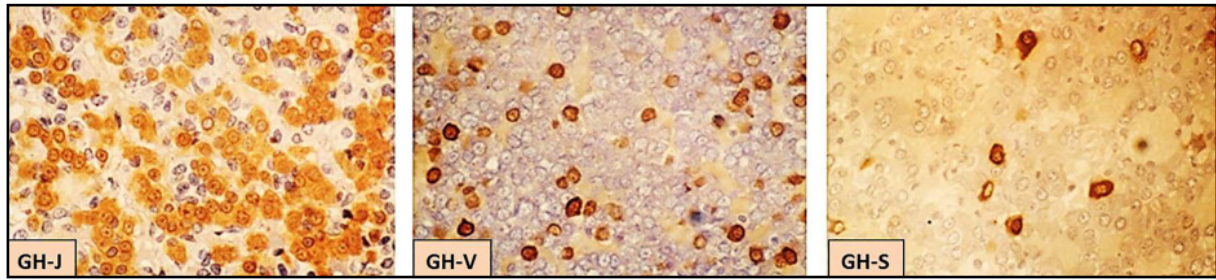


Fig. 9.17 Población somatotropa. Ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) machos. (EnVision peroxidasa, anti-GH, x 400) (Cónsole y col., 1993).

El análisis de los parámetros morfométricos reveló cambios en las células somatotropas en animales de ambos sexos. La densidad de volumen (DV) y la densidad de células (DC) disminuyeron significativamente ($p < 0.01$) en los animales viejos y seniles comparados con los jóvenes. Los valores de área (A) y perímetro (P) se incrementaron en machos y hembras seniles.

Además, cuando el efecto del envejecimiento fue comparado entre sexos, hubo un evidente dimorfismo en la población somatotropa. Los parámetros DV y DC dentro de cada grupo etáreo fue menor en hembras respecto a machos. Los valores de A y P para animales seniles fueron mayores en hembras respecto a machos (fig. 9.18) (Cónsole y col., 1993).

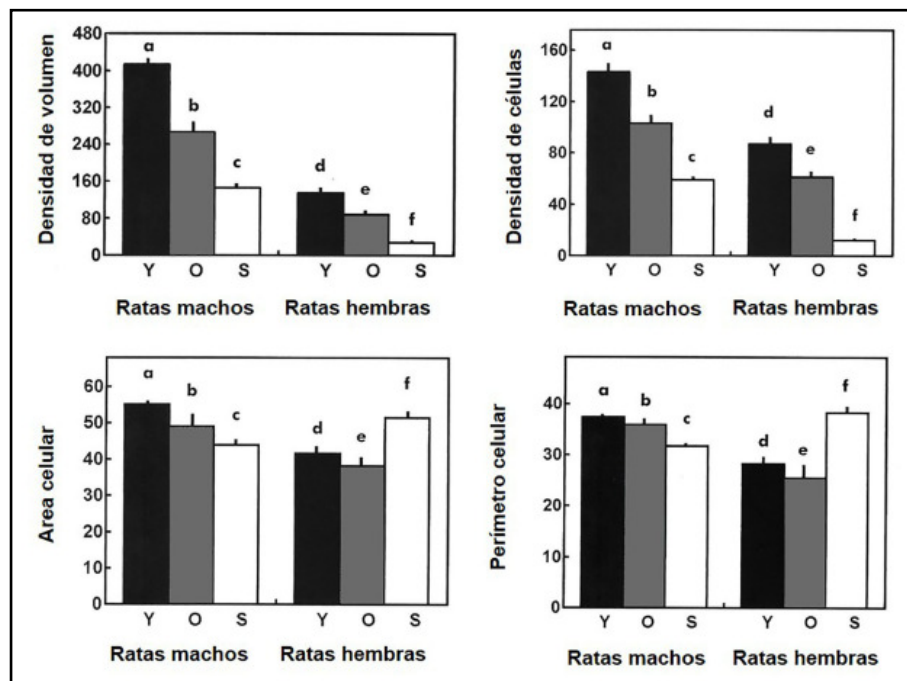


Fig. 9.18 Densidad de volumen (DV x 10⁻³); densidad de células (DC x 10⁻⁴); área celular (um²) y perímetro celular (um) de las somatotropas en ratas hembras y machos envejecidas (Cónsole y col., 1993).

J: jóvenes, V: viejas y S: seniles. DV y DC: valores p intragrupos: (a vs b; b vs c; d vs e; e vs f) o intergrupos (a vs d; b vs e; c vs f): $p < 0.01$.

Los resultados morfométricos han revelado una clara línea de corte de la DV y DC de las somatotropas de ratas viejas y seniles de ambos sexos cuando se comparó con los datos obtenidos en animales jóvenes. Además, entre estos parámetros, los valores medidos en hembras fueron menores a los vistos

en machos en iguales grupos etáreos, hallazgo que constituyó un bien definido dimorfismo sexual. Los valores de área (A) y perímetro (P) celulares fueron observados descendidos de modo no significativo en animales machos seniles, mientras que estos valores fueron mayores en hembras, indicando una hipertrofia como probable compensación al pronunciado descenso observado en el número de somatotropas (Cónsole y col., 1993).

Los diferentes parámetros descritos en el estudio no han sido previamente investigados en animales seniles, sólo en ratas jóvenes y viejas (Rossi y col., 1991; Takahashi, 1991 y 1992). El número de somatotropas inmunomarcadas y su DV han estado reducidos en las ratas de 12 y 18 meses (Takahashi y col., 1990; Takahashi, 1992). Este descenso apareció más marcado en machos respecto a hembras, en desacuerdo con nuestros hallazgos. En humanos, el envejecimiento mostró mayores valores en el tamaño celular y en el porcentaje de somatotropas, con diferencias según sexo que dieron datos más altos en hombres respecto a mujeres (Sun y col., 1984).

Kurosumi y col. (1986) describieron tres tipos de somatotropas en rata: **I, II y III**. Los Tipos II y III, intermedios e inmaduros respectivamente, estuvieron gradualmente aumentados con la edad (Takahashi, 1991 y 1992). Nuestros resultados revelaron sólo somatotropas de Tipo I y II, siendo las últimas las predominantes en las ratas seniles. Es posible que una reducida estimulación de la GHRH cause con la edad un descenso de las somatotropas Tipo I y que este efecto sea más pronunciado en hembras respecto a machos. Las variaciones en los porcentajes relativos con la edad entre estos subtipos de somatotropas fueron distintos en ratas machos respecto a hembras (Takahashi, 1992).

Nuestro análisis ultraestructural reveló dos tipos de somatotropas (Jurado y col., 1998). En los animales jóvenes de ambos sexos, se observaron células ovoideas con núcleos excéntricos. Los gránulos secretorios son numerosos y muy densos (rango: 100-400 nm) y están distribuidos por todo el citoplasma. Las excitosis no son hallazgos comunes. Se ve un complejo de Golgi yuxtannuclear expandido y el RER está formado por sacos aplanados paralelos. Se observan mitocondrias ovales, lisosomas ocasionales y abundantes ribosomas libres. La somatotropa **tipo I** muestra grandes gránulos secretorios de 250-400 nm (**fig. 9.19**).

La somatotropa **tipo II** (**fig. 9.20**) presenta gránulos de menor tamaño (100-150 nm). El Tipo I prevaleció en las ratas machos jóvenes, mientras el Tipo II predominó en animales seniles de ambos sexos.

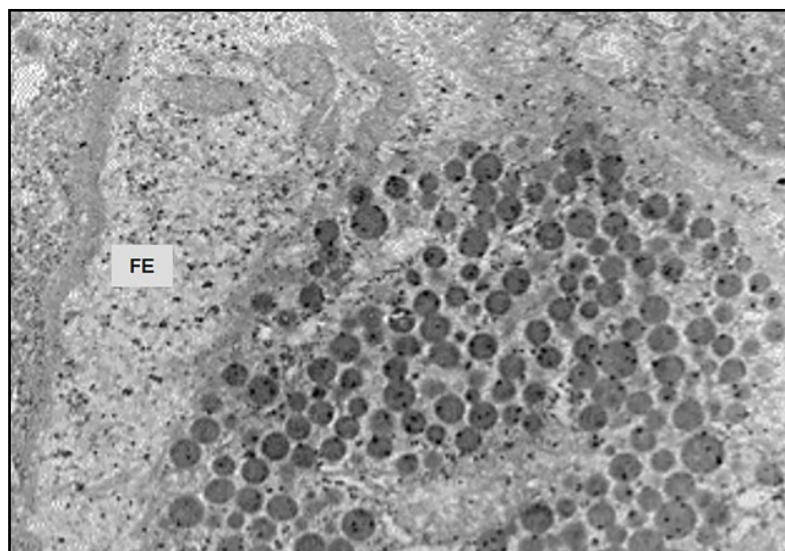


Fig. 9.19 Somatotropa Tipo I de rata macho joven. Gránulos secretorios grandes con partículas de oro (x 20.000) (Cónsole y col., 1993).

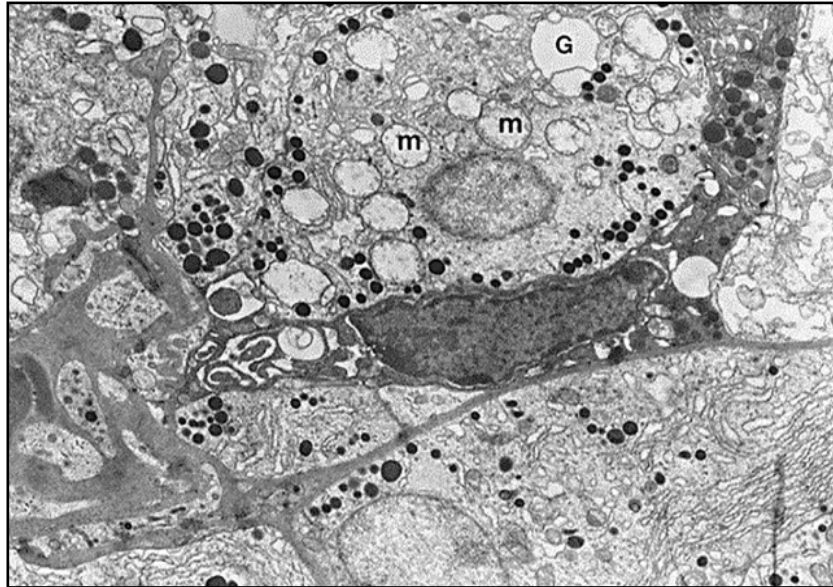


Fig. 9.20 Somatotropa Tipo II de rata macho joven. Gránulos secretorios grandes y pequeños. Núcleos (N) (x 24.000) (Cónsole y col., 1993).

En las ratas viejas, se observan cambios distintivos en un buen número de somatotropas (**figs. 9.21-9.22**). El complejo de Golgi aparece ampliamente extendido, con cisternas dilatadas y gránulos inmaduros de variable intensidad, así como gotas con lípidos y el RER muestra cisternas muy dilatadas con un material visible en su interior. Los gránulos secretorios son menos numerosos y se localizan cerca de la membrana plasmática. Algunas células somatotropas desarrollan procesos involutivos que consisten en células oscuras con núcleos electrodensos e imágenes de crinofagia que representa una autofagia de los gránulos de secreción por actividad lisosómica (Jurado y col., 1998).

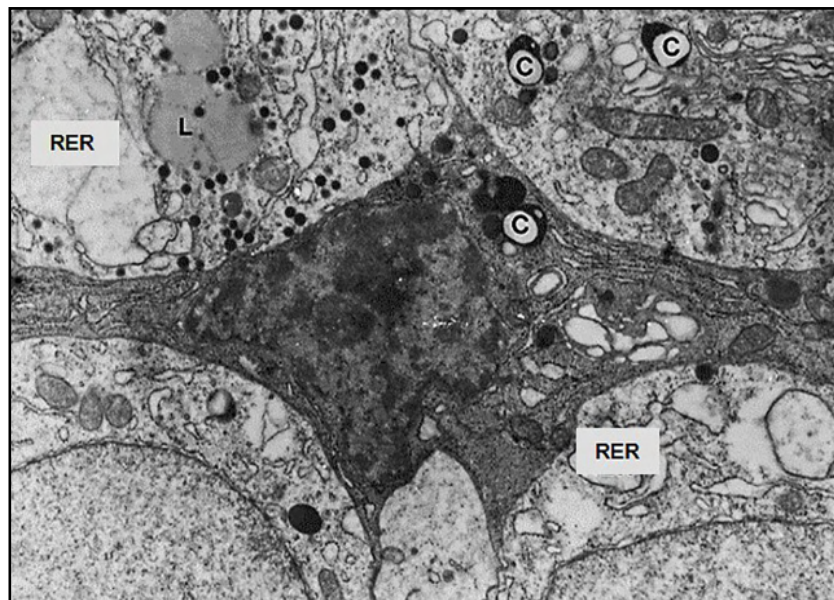


Fig. 9.21 Somatotropa de rata macho vieja. Mitocondrias (m) tumefactas, Golgi (G) dilatado, escasos gránulos secretorios y una célula involutiva oscura (x 10.000). (Jurado y col., 1998).

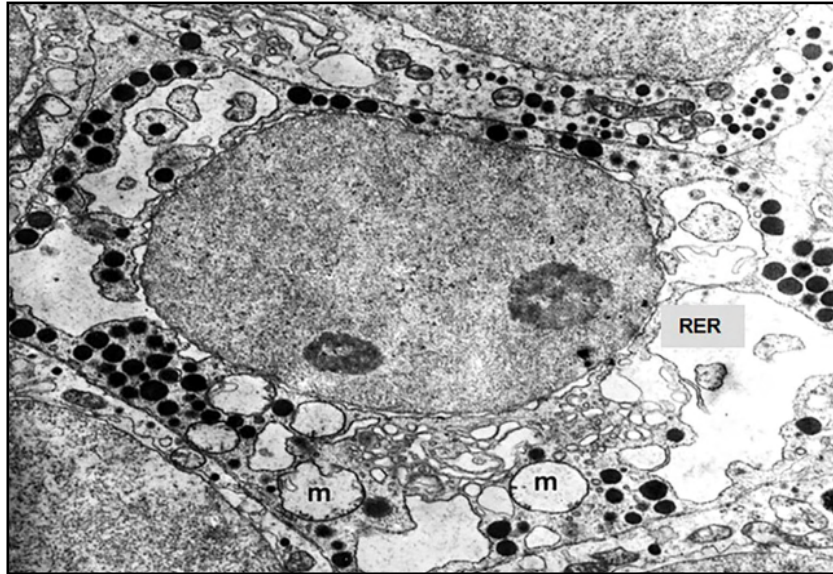


Fig. 9.22 Somatotropa de rata hembra vieja. Célula involutiva oscura, con RER dilatado y crinofagia (C) (x 16.000) (Jurado y col., 1998).

Los cambios ultraestructurales descritos en la población somatotropa de ratas seniles (**fig. 9.23**) aumentaron en frecuencia e intensidad con la edad. Las más marcadas características son:

1. Complejo de Golgi con cisternas dilatadas y aumento de los gránulos inmaduros.
2. RER expandido y dilatado.
3. Tumefacción mitocondrial.
4. Aumento de la actividad lisosómica con crinofagia.
5. Células involutivas oscuras (Jurado y col., 1998).

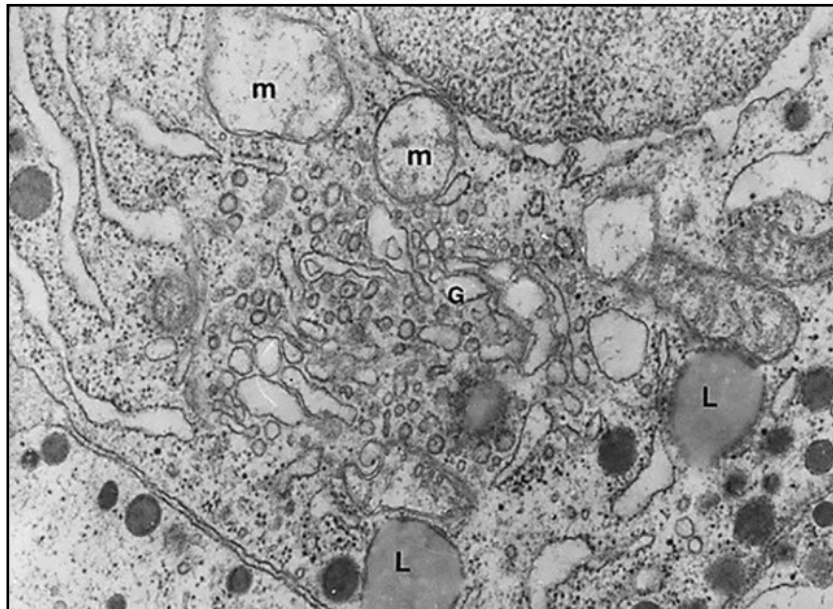


Fig. 9.23 Somatotropa de rata hembra senil. Mitochondrias tumefactas (m), RER dilatado, escasos gránulos secretorios, (L) lisosomas (x 19.000) (Jurado y col., 1998).

Respecto a nuestros datos séricos, las hembras seniles registraron una reducción en la frecuencia y amplitud de los pulsos de la GH, con un descenso de los niveles basales ($p < 0.01$) (ng/ml) (Goya y col., 1990; Cónsole y col., 1993). Estos datos se correlacionaron con lo documentado por Sonntag y col. (1980 y 1988). La secreción promedio de GH en 24 hs es aproximadamente un tercio en viejos

respecto a jóvenes (Sonntag y col., 1980; Takahashi y col., 1987). Los datos de perfusión hipofisaria mostraron una menor liberación de GH en ratas seniles hembras respecto a jóvenes (Brown y col., 1999). La secreción pulsátil de GH, los valores promedio de GH liberada en 24 hs y la respuesta de la GH a la administración de GHRH en animales de edad avanzada y en humanos son más bajos que en los adultos jóvenes (Müller y col., 1993).

Un desbalance hormonal, caracterizado por un descenso de GHRH y un incremento en GIH, se presentó en ratas envejecidas de ambos sexos (Rossi y col., 1991; Sonntag y Gough, 1988; Sun y col., 1984). En agregado, la respuesta reducida a la GHRH con respecto a la cantidad de GH que ha sido observada en ratas viejas probablemente resulta de un limitado contenido de GH pituitaria y de una secreción disminuida de tal hormona (Ceda y col., 1986; Sonntag y col., 1983). El contenido hipotalámico de GHRH y su expresión génica han sido comunicados reducidos en ratas envejecidas (De Gennaro Colonna y col., 1989). Este neuropéptido, el principal mitógeno de las somatotropas (Billestrup y col., 1986), sería un potencial regulador del tamaño de la población somatotropa durante el envejecimiento. Además, los cambios en la respuesta pituitaria al receptor también contribuyeron al descenso de la sensibilidad a la GHRH con la edad (Spik y Sonntag, 1989). Dobado-Berrios y col. (1996) demostraron que el contenido reducido de la GH pituitaria en ratas machos envejecidas se debe al predominio de somatotropas de baja densidad, a un descenso en la capacidad de síntesis de GH y a una inhibición crónica en la liberación de GH.

Concluimos que el envejecimiento en ratas produjo cambios sobre la morfología de la población somatotropa adenohipofisaria, con marcado descenso del número de somatotropas en los animales viejos/seniles y cambios ultraestructurales sugerentes de un patrón secretorio de hiperestimulación compensatoria en la senescencia.

9.5 Población tirotropa envejecida

A nivel hipotalámico, se describieron cambios en los neurotransmisores y un déficit de la hormona liberadora de tirotrófina (TRH) (Pekary y col., 1984). La TRH es reguladora del eje tiroideo y con la edad se ha documentado el descenso en su síntesis, expresión y actividad. También estaría implicada en las enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson y las drogas sintéticas podrían ser efectivas en su tratamiento (Daimon y col., 2013).

A nivel adenohipofisario, se detectó una menor respuesta de la población tirotropa al estímulo de TRH (Snyder y Utiger, 1972), un descenso del contenido de la tirotrófina (TSH) glandular (Donda y col., 1989) y variaciones morfométricas en la población tirotropa (Zegarelli-Schmidt y col., 1985). Con la edad se acumuló TSH de alto PM y una alteración entre TSH-inmunorreactiva/bioactiva (Aizawa y col., 1989). Las somatotropas y tirotropas comparten una célula precursora común, expresando el factor de transcripción **Pit1**. Se sugirió una transdiferenciación de somatotropas a tirotropas que explicaría la patogenia de los adenomas secretores de GH multihormonales (Radian y col., 2003).

En la tiroides, existiría una hiposensibilidad de los receptores foliculares a la TSH y un incremento de los anticuerpos anti-tiroideos (Klug y Adelman, 1977).

La glándula tiroides presentó durante el envejecimiento numerosas alteraciones (Blumenthal y Perlstain, 1987):

- a. Distensión de los folículos.
- b. Decoloración del coloide.
- c. Aplanamiento del epitelio folicular, sugerente de reducción de la actividad secretoria.
- d. Escasez de mitosis.
- e. Marcada fibrosis.
- f. Aterosclerosis de los vasos sanguíneos tiroideos.
- g. Bocio (Hintze y col., 1991).

Nuestros estudios analizaron los cambios morfométricos IHQ y ultraestructurales de la población tirotrópica durante el envejecimiento, así como los niveles séricos de las hormonas TSH, T3, T4 (Cónsole, 1995 y 1997). Las células tirotrópicas tienen patrón citoplásmico granular difuso y gran afinidad topográfica por la zona ventro-medial de la *pars distalis*. Se detectó 5% de tirotrópicas respecto a la población celular total. El envejecimiento produjo descenso de las tirotrópicas en ratas viejas y seniles.

La **fig. 9.24** muestra áreas representativas de la población tirotrópica: ratas jóvenes (3 meses), viejas (20 meses) y seniles (29 meses).

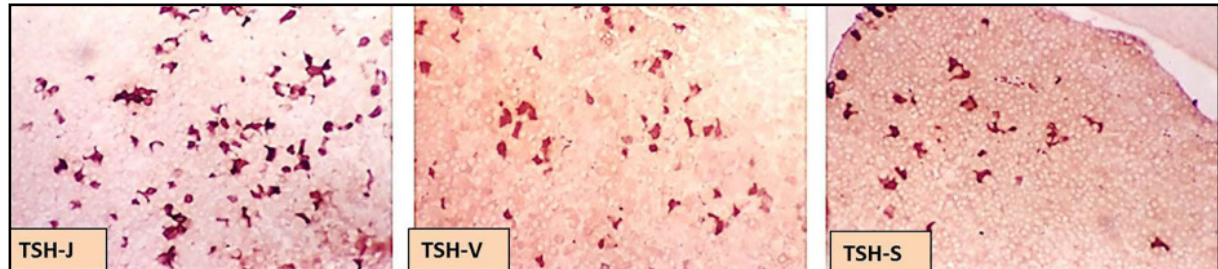


Fig. 9.24 Población tirotrópica. Ratas jóvenes, viejas y seniles machos (EnVision peroxidasa, anti-TSH, red, x 400) (Cónsole y col., 1997).

El análisis morfométrico mostró un descenso significativo ($p < 0.01$) de la densidad de volumen (DV) y de la densidad de células (DC) en ratas viejas y seniles respecto a jóvenes, en ambos sexos.

Con referencia al área (A) y al perímetro (P) celulares, se registró un incremento significativo ($p < 0.01$ para A y $p < 0.05$ para P) en animales viejos y seniles respecto a jóvenes, machos y hembras (**cuadros 9.2 - 9.3**) (Cónsole y col., 1997).

Cuadro 9.2. Morfometría de la población tirotrópica en machos:

Parámetros machos	Joven (10)	Viejo (8)	Senil (8)
Área celular (A)	33.5 ± 1.8	39.5 ± 1.7 *	38.4 ± 0.5 *
Perímetro celular (P)	31.3 ± 1.6	34.4 ± 1.6 ⁺	33.7 ± 1.7 ⁺
DV (x 10 ⁻³)	4.8 ± 0.9	1.9 ± 0.4*	2.1 ± 0.6*
DC (x 10 ⁻⁵)	13.7 ± 2.3	4.8 ± 1.0*	5.8 ± 1.1*

Cuadro 9.3. Morfometría de la población tirotrópica en hembras:

Parámetros: hembras	Joven (10)	Viejo (8)	Senil (8)
Área celular (A)	30.3 ± 1.7	37.2 ± 1.6 *	37.0 ± 1.7 *
Perímetro celular (P)	31.9 ± 1.7	34.4 ± 1.6 ⁺	33.8 ± 1.8 ⁺
DV (x 10 ⁻³)	4.2 ± 1.0	1.7 ± 0.3*	1.0 ± 0.3*
DC (x 10 ⁻⁵)	14.0 ± 2.3	4.7 ± 1.0*	3.3 ± 1.0*

Cada valor representa el promedio ± ES. Las diferencias de significancia estadística con respecto al grupo etáreo son indicadas: * $p < 0.01$; + $p < 0.05$, NS = no significativo. El número de animales se muestra entre paréntesis (Cónsole y col., 1997).

En correlación con nuestros datos de área celular (A), Garner y Bernick (1975) detectaron un aumento de las tiotropas en ratas machos y hembras de 26 meses con grandes vacuolas citoplasmáticas. Con la edad, se produjo una acumulación de TSH de alto PM y una alteración entre TSH inmunorreactiva/bioactiva (Klug y col., 1977; 1979).

Nuestros niveles séricos de TSH-T4-T3 en ratas viejas y seniles mostraron descenso de T4 y ascenso de TSH, de acuerdo con estudios previos que registraron pérdida del ritmo circadiano de la TSH (Goya y col., 1987; 1990) (**cuadro 9.4**).

Cuadro 9.4. Niveles séricos de TSH, T4 y T3 en ratas machos envejecidos.

Hormona	Joven	Viejo	Senil
TSH (ng/ml)	4.8 ± 0.5	6.2 ± 1.2	10.1 ± 1.6**
T4 (ug/dl)	4.1 ± 0.3	3.1 ± 0.2**	2.7 ± 0.5**
T3 (ng/dl)	77.4 ± 7.1	74.6 ± 6.7	63.5 ± 6.5

Algunos autores detectaron niveles no alterados de TSH o aumentados (Gregerman y col., 1981). El descenso en los niveles séricos de T4 detectado en nuestras ratas envejecidas concuerda con los hallazgos de numerosos autores (Huang y col., 1976; Valueva y Verzhikovskaya, 1977; Chen y Walfishi, 1979; Gregerman y col., 1981; Pekary y col., 1983; Goya y col., 1990).

Estos datos se sustentan en el hecho de que el hipotiroidismo experimental no sólo resulta en un incremento de TSH, sino que anula las variaciones circadianas de la hormona (Fukuda y col., 1975).

Cizza y col. (1992) comunicaron en ratas machos Fischer 344/N una pérdida progresiva de los folículos tiroideos durante el envejecimiento, asociada con descenso de T4 y T3 libres, pero no de la TSH que permaneció sin cambios.

Ryan y col. (1979) no hallaron diferencias importantes la granulación de las tiotropas y en la inmunorreactividad relacionadas con la edad y el sexo, por lo que sugirieron que la pituitaria sería capaz de producir TSH hasta edad avanzada. Croxson y col. (1981) hicieron pruebas de TRH y T4 en pacientes ligeramente tirotóxicos y eutiroideos con un índice elevado de tiroxina libre. El índice T3 libre fue normal en un tercio de los pacientes levemente tirotóxicos y en todos los pacientes eutiroideos con T4 falsamente elevada. En el envejecimiento la respuesta reducida a la TRH se debería a una autonomía parcial de la tiroides y no a una menor capacidad de las tiotropas.

Donda y col. (1987 y 1989) hallaron diferencias entre ratas jóvenes y viejas de ambos sexos en los receptores T3 y en la concentración de T3 pituitaria. En las ratas jóvenes observaron una correlación inversa entre densidad de receptores T3 pituitarios y TSH plasmática, mientras que en ratas viejas la ausencia de esta correlación es sugerente de una alteración en la acción de T3 sobre las tiotropas o de cambios que responden a otros factores moduladores de la secreción de TSH.

Szabolcs y col. (1991) sugirieron que el envejecimiento no sólo induce una menor respuesta de la TSH a la TRH, sino que podría estar relacionado con una disminución de la síntesis de TSH y con un deterioro de la acción de T3 sobre las tiotropas.

Moreira y col. (2005) demostraron que la capacidad de las tiotropas para incrementar la secreción hormonal, en respuesta a menores niveles de las hormonas tiroideas, se altera en las ratas viejas, aun cuando dichos niveles estuvieran muy reducidos. La ultraestructura de las ratas jóvenes (Jurado, 2003) muestra células poligonales angulares, pequeñas y en número reducido. Los gránulos secretorios son escasos, de densidad variable, membrana visible, se ubican junto a la membrana plasmática y presen-

tan un diámetro promedio de 100 nm. El RER presenta cisternas con ribosomas y el Golgi yuxtannuclear reducido. Se ven mitocondrias y lisosomas (**fig. 9.25**).

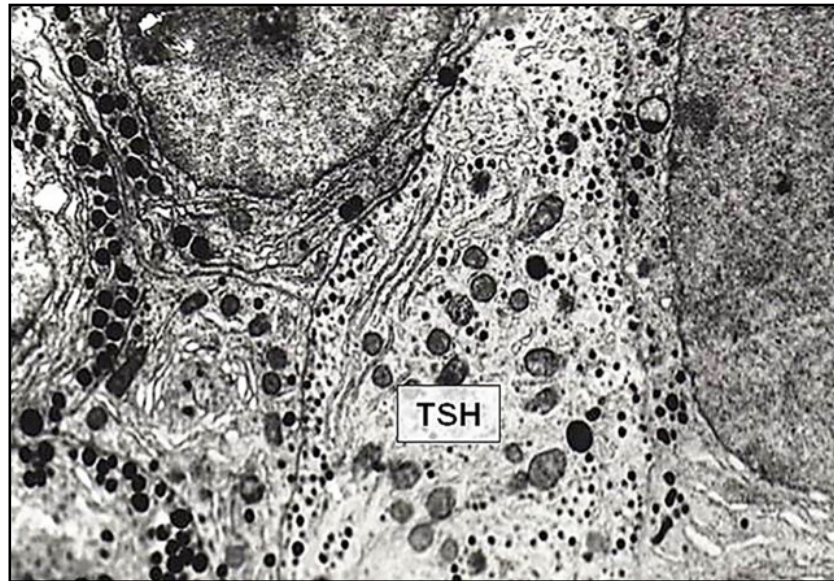


Fig. 9.25 Tirotrona (TSH) de rata macho joven. Gránulos secretorios pequeños y periféricos. (x 10.000) (Jurado, 2003).

Los animales envejecidos mostraron un 20% de células hipertróficas con dilatación de las cisternas del RER y del complejo de Golgi. También se detectaron células oscuras involutivas, descenso del número de gránulos secretorios e imágenes de crinofagia, con un descenso de las exocitosis. La **fig. 9.26** presenta un complejo de Golgi (G) expandido y mitocondrias (m) con ligera tumefacción.

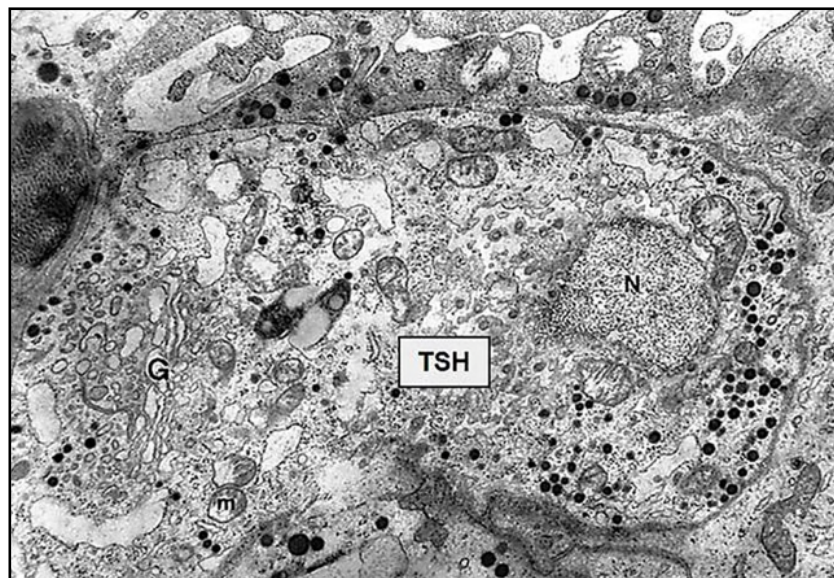


Fig. 9.26 Tirotrona de rata hembra vieja. Núcleo (N), Golgi (G) dilatado y mitocondrias (m) tumefactas (x 12.000) (Jurado, 2003).

En la **fig. 9.27-9.29** se ve la ultraestructura de las tirotropas en ratas viejas y seniles.

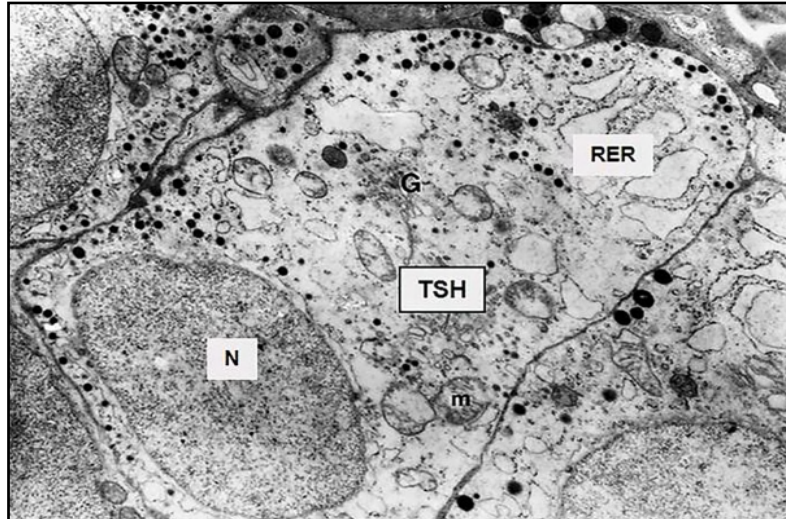


Fig. 9.27 Tirotropa de rata hembra vieja. Núcleo (N), Golgi (G), RER y mitocondrias (m). (x 11.000) (Jurado, 2003).

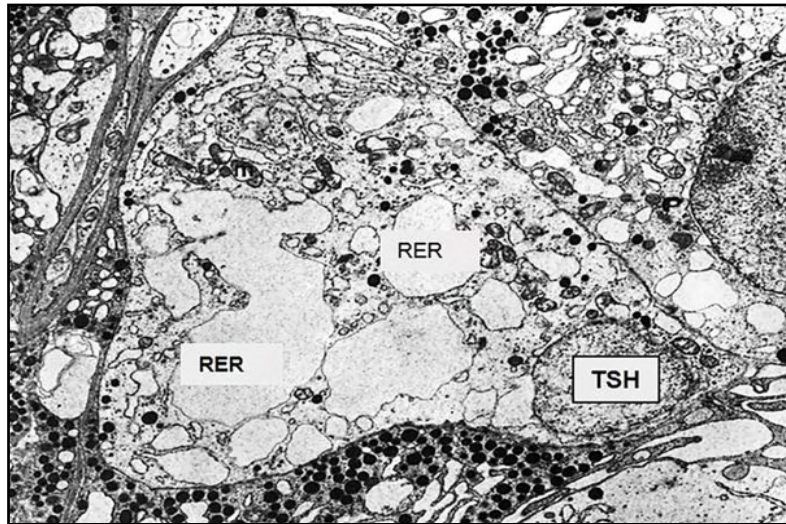


Fig. 9.28 Tirotropa (TSH) de rata hembra senil. RER dilatado y escasos gránulos secretorios. (x 11.000) (Jurado, 2003).

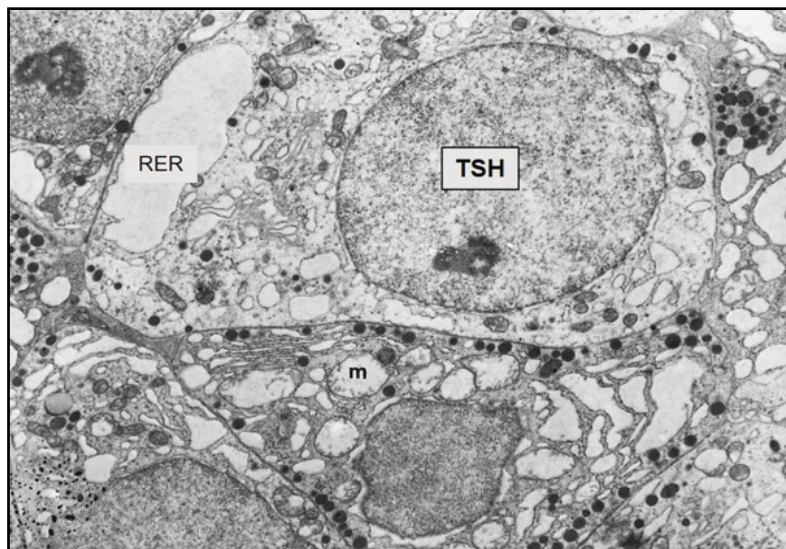


Fig. 9.29 Tirotropa de rata hembra senil. RER dilatado, mitocondrias tumefactas (m) y escasos gránulos secretorios (x 10.000) (Jurado, 2003).

Concluimos que las ratas envejecidas de ambos sexos mostraron una población tirotrópica con descenso de la densidad celular y de volumen, aumento del tamaño celular, marcados cambios ultraestructurales a nivel de sus gránulos secretorios, RER y Golgi, así como una disminución de los niveles circulantes de T4 con altos niveles de TSH, sugerentes de una progresiva desensibilización de la glándula tiroidea a la TSH.

9.6 Población gonadotropa envejecida

A nivel hipotalámico, numerosos autores han detectado una disfunción durante el proceso de envejecimiento (Clemens y col., 1969; Aschheim, 1976; Meites y col., 1980 y 1982; Peng, 1983b; Harman y Talbert, 1985; Meites y col., 1986), con una declinación en la secreción de las hormonas hipofisotróficas hipotalámicas (HHH) y de los neurotransmisores (noradrenalina y dopamina) (Simpkins y col., 1977).

La neuroendocrinología del envejecimiento modifica el eje hipotálamo-pituitario-órgano blanco (gónadas, hígado, músculo, grasa y cerebro) en las dos vías: somatotropa y gonadal (Veldhuis, 2008). La secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) disminuyó durante el envejecimiento (Jarjour y col., 1986; Gruenewald y col., 2000).

La noradrenalina indujo la secreción de GnRH con estimulación pituitaria (Sarkar y col., 1979) y controló la función reproductiva (Thiery y Martin, 1991). El descenso de la dopamina y noradrenalina hipotalámicas fueron importantes, ya que influenciaron al eje gonadotrofo provocando la declinación de la función reproductiva. El aumento de la relación entre serotonina y noradrenalina contribuyó a crear fallas en la liberación cíclica de la GnRH durante el envejecimiento (Walker, 1980). Esto llevó a la finalización del ciclo estral en ratas hembras y a un descenso en la secreción de testosterona en ratas machos (Simpkins, 1983; Meites, 1991).

Un estudio ultraestructural en las neuronas de la GnRH en ratas envejecidas mostró un descenso en la fracción de volumen del RER y del Golgi, sugerentes de una menor actividad neuronal (Romero y col., 1994).

A nivel pituitario, se ha descrito una hiposensibilidad a la GnRH y una menor síntesis de LH y FSH (Huang y col., 1976) con un menor número de gonadotropas (Meites, 1991). El descenso de la población gonadotropa fue demostrado en ratas envejecidas machos y hembras (Huang y col., 1978; Cónsole y col., 1994 y 1997). La reducción de la expresión génica en la pituitaria anterior contribuyó a la senescencia reproductiva en las ratas hembras (Zheng y col., 2007).

En estudios séricos, el envejecimiento estuvo relacionado con una disminución en la amplitud de los pulsos de LH y FSH, en ratas de ambos sexos y un aumento de la respuesta de la LH a la retroalimentación ejercida por los gonadoesteroides (Lu, 1979 y 1983; Steiner y col., 1984; Deslypere y col., 1987).

Peng y col. (1983a) hallaron en ratas machos seniles:

1. Deficiencias en la regulación de la LH en respuesta a la eliminación de los esteroides gonadales.
2. La capacidad de depuración de LH y FSH circulantes no es diferente en viejos respecto a jóvenes si los tamaños moleculares son similares.
3. El nivel sérico elevado de FSH en ratas machos envejecidas no se debe a una vida media prolongada.

A nivel gonadal, el envejecimiento determinó una hiposensibilidad de los receptores a las gonadotropinas que provocó hipotrofia progresiva asociada a aterosclerosis y fibrosis (Canivenc y col., 1979). Se demostró que el trasplante hipofisario de ratas viejas a jóvenes hipofisectomizadas no logró ordenar los ciclos, por lo que la pituitaria no sería responsable del envejecimiento (Peng, 1983b) y tampoco las gónadas, ya que el trasplante ovárico de ratas viejas a jóvenes ovariectomizadas no logró restablecer el reciclado (Aschheim, 1976; Peng, 1983a). La falla en la síntesis de progesterona es uno de los cambios endocrinos más tempranos del envejecimiento ovárico y se relaciona con el incremento de los ciclos anovulatorios y el descenso del número de cuerpos lúteos.

Los eventos en el eje hipotálamo-pituitario-ovárico llevaron a una inexorable declinación de la ciclicidad y anuncia la **menopausia** (Wise y col., 1989; 1994 y 1997; Wise, 1993). En machos, la edad produjo menor peso testicular, descenso del número de células de Leydig (Neaves y col., 1984) y de la testosterona bioactiva (Nankin, 1986).

La **teoría del ciclo reproductivo celular** postula que las hormonas regulan la reproducción para controlar el envejecimiento a través de la señalización del ciclo celular con:

1. Regulación simultánea de la tasa de envejecimiento y de reproducción.
2. Ajuste de la tasa de crecimiento-desarrollo y del tamaño final del animal.
3. Aparente paradoja: el tamaño es directamente proporcional a la vida útil e inversamente proporcional a la fertilidad.
4. Las diferentes tasas de reproducción se asocian con diferencias en la vida media.
5. Desarrollo de las enfermedades del envejecimiento.
6. La evolución promueve el crecimiento-desarrollo en la vida temprana y el vano intento de mantener la reproducción con la edad. En esencia, el ciclo reproductivo celular se puede explicar en todas las formas reproductivas (Atwood y Bowen, 2011).

En síntesis, durante el envejecimiento en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal hay: **a.** Menor respuesta hipotalámica con descenso de las HHH y de los neurotransmisores debido a degeneración neuronal. **b.** Hiposensibilidad hipofisaria a las HHH. **c.** Baja en los niveles séricos de LH, FSH, estrógenos, progesterona y testosterona bioactivos y menor amplitud de los pulsos de LH-FSH. **d.** Cambios en el número y afinidad de los receptores hormonales gonadales.

Los estudios IHQ (Cónsole y col., 1994 y 1997) detectaron una población gonadotropa que representó un 10% de la población total, distribuida de en toda la *pars distalis*, pero con preferencia por la zona ventral periférica. La inmunomarcación evidenció un patrón citoplasmático granular, con cierto grado de vacuolización. Las gonadotropas mostraron una progresiva declinación en las ratas viejas y seniles de ambos sexos respecto a los animales jóvenes (**figs. 9.30 - 9.31**).

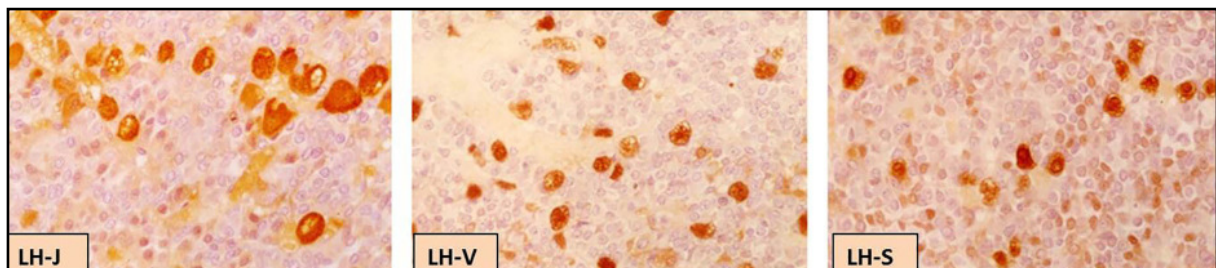


Fig. 9.30 Población luteinizante. Ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) machos (EnVision peroxidasa, anti-LH, x 400).

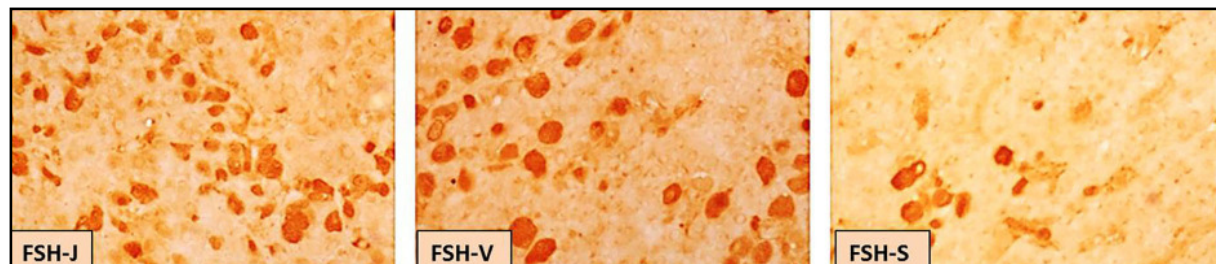


Fig. 9.31 Población foliculotropa. Ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) machos (EnVision peroxidasa, anti-FSH, x 400).

El estudio morfométrico de la población folículo­tropa y luteinizante registró una reducción ($p < 0.01$) en densidad de células (DC) y densidad de volumen (DV) en ratas viejas y seniles, comparadas con sus contrapartes jóvenes de ambos sexos (Cónsole y col., 1997) (**cuadros 9.5 -9.6**).

Cuadro 9.5. Morfometría de la población folículo­tropa

Parámetros	Jóvenes (n = 10)	Viejos (n = 9)	Seniles (n = 8)
DV ($\times 10^{-3}$)			
Machos	5 (± 1) (a)	2.6 (± 0.6) (b)	2.1 (± 0.7) (c)
Hembras	5.8 (± 1) (d)	3.0 (± 1) (e)	2.3 (± 0.9) (f)
DC ($\times 10^{-4}$)			
Machos	12 (± 2) (a)	6 (± 1) (b)	6 (± 1) (c)
Hembras	20 (± 3) (d)	10 (± 1) (e)	7 (± 1) (f)

Cuadro 9.6. Morfometría de la población luteinizante

Parámetros	Jóvenes (n = 10)	Viejos (n = 9)	Seniles (n = 8)
DV ($\times 10^{-3}$)			
Machos	15 (± 3) (a)	6 (± 0.8) (b)	5 (± 1) (c)
Hembras	10 (± 1) (d)	5 (± 0.7) (e)	3 (± 0.5) (f)
DC ($\times 10^{-4}$)			
Machos	26 (± 3) (a)	15 (± 1) (b)	10 (± 2) (c)
Hembras	110 (± 5) (d)	88 (± 3) (e)	89 (± 4) (f)

Valores: p intragrupos: a vs. b and b vs. c: < 0.01 ; d vs. e: NS; e vs. f: < 0.01 ; p intergrupos: a vs. d: NS; b vs. e and c vs. f: < 0.01 . Número de ratas entre paréntesis. Valores \pm ES.

En concordancia con nuestros resultados, Goldman y col. (1988) observaron una declinación de las células inmunorreactivas LH y FSH en la región medio-ventral de las pituitarias de ratas envejecidas.

Los datos séricos basales de FSH (ng/ml) mostraron un incremento significativo ($p < 0.05$) desde los 4 a los 20 meses y luego permanecieron estables. Los niveles de LH sérica (ng/ml) registraron descenso en seniles respecto a jóvenes (Cónsole y col., 1994).

Desde el punto de vista ultraestructural, las gonadotropas han sido clasificadas en dos tipos: células folículo­tropas (**Tipo I**) y luteinizantes (**Tipo II**).

Las folículo­tropas se caracterizaron por contener dos tipos de gránulos secretorios: grandes y pequeños, mientras las células luteinizantes contuvieron sólo pequeños gránulos. La co-localización simultánea para FSH y LH fue hallada en un considerable número de gonadotropas (Kurosumi, 1974; Kurosumi y col., 1991).

En nuestros estudios ultraestructurales en ratas jóvenes machos y hembras identificamos los dos tipos de gonadotropas (**Tipo I y Tipo II**) (Jurado, 2003).

Las **células Tipo I (FSH)** muestran un mayor tamaño y formas variables: ovals, redondeadas o poligonales; se observan núcleos esféricos con un borde dentado y gránulos secretorios de diferentes tamaños: grandes (200-300 nm) y pequeños (150-200 nm) con electrodensidad variable. El complejo de Golgi se ve hipertrófico con sacos dilatados y el RER está bien desarrollado con cisternas redondeadas (**fig. 9.32**).

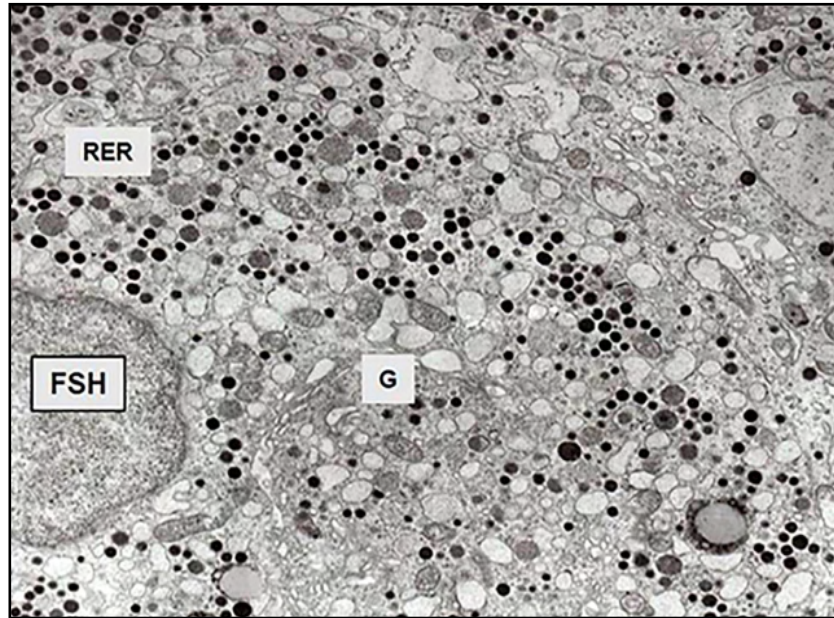


Fig. 9.32 Folículotropo (FSH) tipo I de rata macho joven. RER y Golgi (G) (x 12.000).

Las **células Tipo II (LH)** son de menor tamaño y presentan sólo gránulos secretorios pequeños (100-200 nm) esparcidos por todo el citoplasma. El RER está bien desarrollado y muestra cisternas bien delimitadas (**fig. 9.33**).

Ambos tipos de células gonadotropas están en contacto con los capilares sanguíneos.

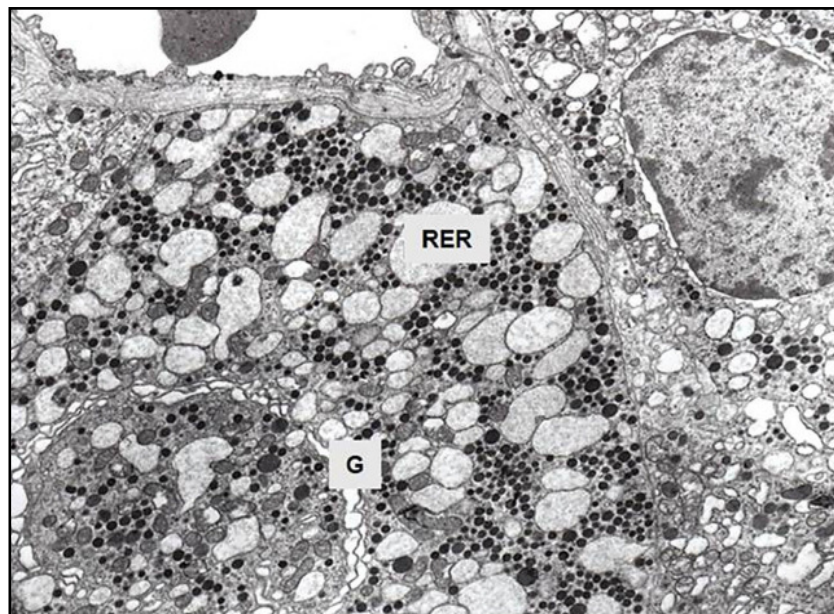


Fig. 9.33 Célula LH tipo II de rata macho joven. RER y Golgi (G) (x 10.000).

Las **gonadotropas Tipo I** de ratas viejas presentan unos pocos gránulos secretorios pequeños. En las **figs. 9.34 y 9.35** se observa RER dilatado con material homogéneo de baja densidad y lisosomas con vacuolas claras (Jurado, 2003).

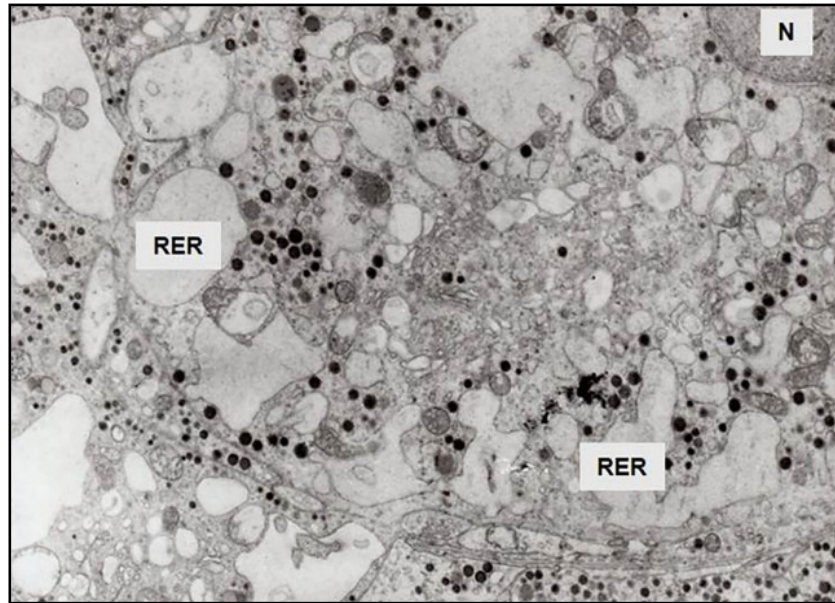


Fig. 9.34 Folículo de FSH de ratona macho vieja. RER dilatado y núcleo (N), (x 20.000).

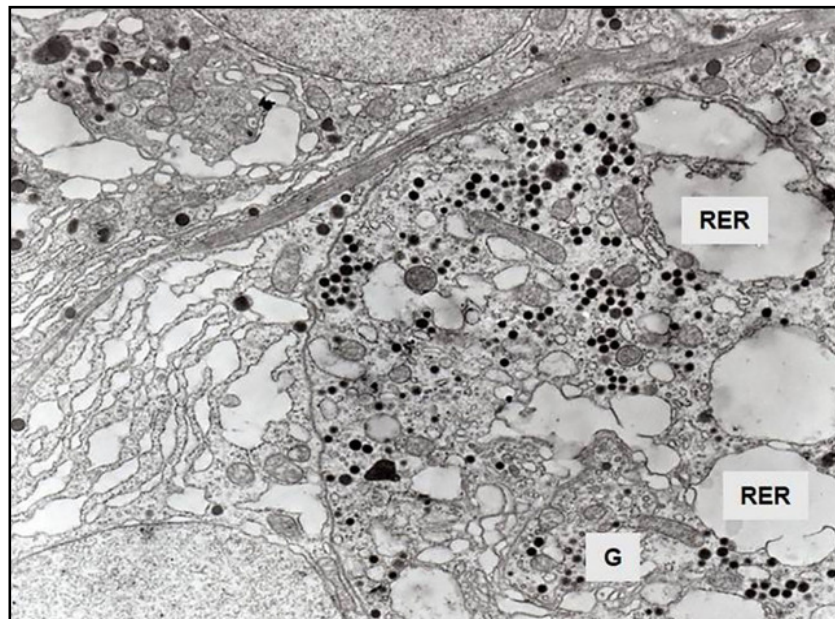


Fig. 9.35 FSH de ratona hembra vieja. RER muy dilatado y Golgi (G) expandido (x 12.000).

En las ratas seniles los cambios ultraestructurales aumentaron en frecuencia e intensidad (Jurado, 2003). Se observan núcleos pequeños, oscuros y excéntricos. El citoplasma está vacuolado y con aumento de lisosomas. El Golgi presenta cisternas dilatadas coalescentes y vacuolas con material homogéneo de baja densidad. El RER muestra hipertrofia y numerosos gránulos secretorios inmaduros. Hay mayor actividad lisosómica y células involutivas que sugieren apoptosis (figs. 9.36 - 9.37).

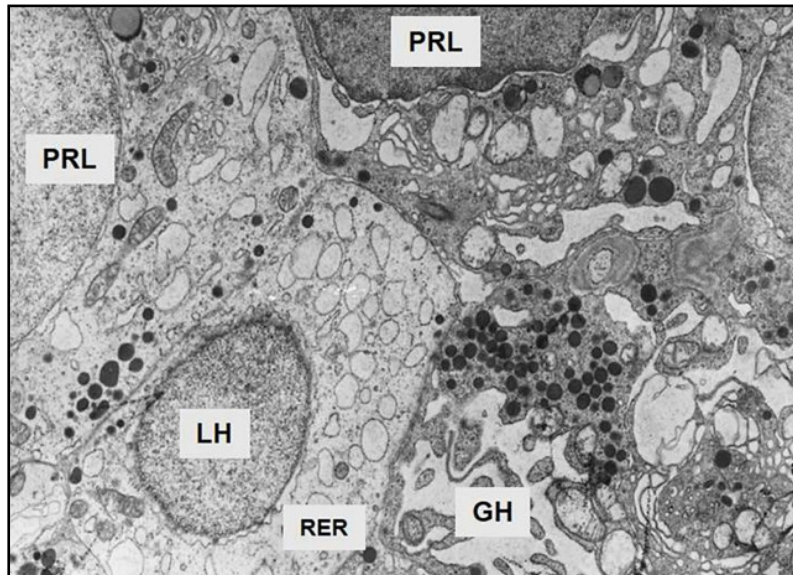


Fig. 9.36 Célula luteinizante (LH) de rata macho senil. Escasos gránulos secretorios y cisternas de RER moderadamente dilatadas (x 12.000).

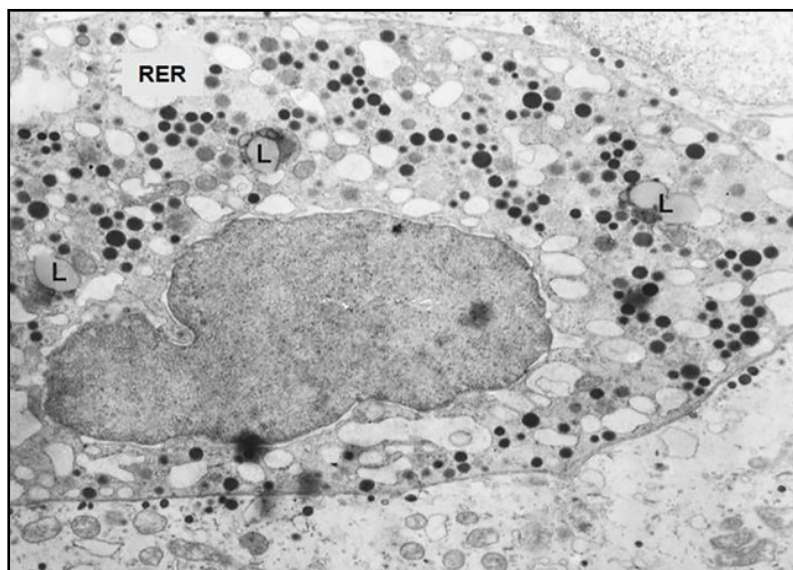


Fig. 9.37 Folículo trofopica (FSH) de rata hembra senil. Lisosomas (L) y RER (x 12.000).

Kurosumi y col. (1991) hallaron que las células Tipo I (FSH) eran más numerosas en ratas machos, mientras que las Tipo II (LH) predominaban en hembras y demostraron mediante radioinmunoensayo que las pituitarias de ratas machos envejecidas disminuyeron su contenido en FSH e incrementaron el contenido de LH. Además, en ratas hembras viejas el contenido pituitario de FSH no varió, mientras que aumentó el de LH. Estos hallazgos sugieren que existe una fuerte correlación entre el contenido de gonadotropinas y el número de gonadotropas de ambos tipos. También detectaron una menor cantidad de células FSH en machos envejecidos, mientras las células LH aumentaron. En hembras envejecidas la incidencia de ambos tipos no cambió.

A nivel pituitario, la glándula fue menos sensible a los estímulos de la GnRH. Sonntag y col. (1984) demostraron que la capacidad disminuida de la GnRH para inducir la secreción de LH en ratas machos viejas

no fue consecuencia de la reducción del número de receptores pituitarios para GnRH, ya que este número fue similar en ratas viejas y jóvenes. La hiposensibilidad pituitaria podría explicarse en diferentes sentidos:

1. Menor número de gonadotropas.
2. Células luteinizantes menos sensibles a la acción de la GnRH (Krieg y col., 1995).
3. Alteraciones subcelulares como las descritas a nivel ultraestructural por Kurosumi y col. (1991) y el aporte de nuestras observaciones.

La glándula pituitaria podría disminuir marcadamente su capacidad para secretar LH y FSH, llevando a la pérdida de los ciclos estrales en ratas hembras, así como a una declinación de la testosterona en ratas machos envejecidas (Everitt y Meites, 1989).

El envejecimiento reproductivo en machos y hembras llevó a un descenso en el rango y/o frecuencia de LH y FSH, junto con una disminución de las isoformas bioactivas (Lu, 1983; Steiner y col., 1984; Cónsole y col., 1994).

La reducida liberación de LH en gonadotropas de ratas viejas podría determinar el descenso de la síntesis de LH o la disminución del número de gonadotropas durante el envejecimiento (Liu y col., 1993), en concordancia con nuestros hallazgos.

Concluimos que el envejecimiento tuvo un claro impacto sobre la población gonadotropa de rata, causando un significativo descenso en el número de células y provocando cambios ultraestructurales sugerentes de hiperestimulación compensatoria que estuvieron más marcados en la etapa de senescencia.

9.7 Población corticotropa envejecida

La respuesta neuroendocrina a la adaptación frente al estrés activa el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HHA):

- a. Hipotálamo: hormona liberadora de corticotrofina (CRH) y vasopresina: núcleo paraventricular.
- b. Hipófisis: corticotropas: corticotrofina (ACTH).
- c. Adrenal: glucocorticoides que sufre alteraciones a nivel transcripcional durante el envejecimiento (Aguilera, 2011).

Se detectó un factor de liberación de ACTH residuo 41 a nivel hipotalámico (Antoni, 1986). Con la edad, el eje corticotropo presenta una mayor variabilidad de los diferentes parámetros medidos, incluyendo la respuesta al estrés. Los resultados contradictorios podrían deberse a las variaciones con la edad y las diferencias entre especies (roedores y primates) (Goncharova, 2013).

Revskoy y Redei (2000) observaron una desregulación del eje H-H-A durante el envejecimiento debida a un menor grado de retroalimentación negativa. El hipocampo sería el principal sitio responsable de dicha alteración. Los hallazgos demostrarían una disminución de la sensibilidad de las corticotropas a los glucocorticoides con la edad. Hubo descenso de la corticosterona plasmática en respuesta a estímulos potentes de estrés en ratas de edad avanzada (Brett y col., 1983).

A nivel del hipocampo, la pérdida de neuronas sería un indicador válido para evaluar los cambios detectados durante el envejecimiento (Landfield y col., 1978). Además, la edad determinó una depleción de los receptores de corticosteroides (De Kloet, 1992).

Tres meses de exposición a la corticosterona causaron un patrón de degeneración neuronal similar al observado durante el envejecimiento: (Salposky y col., 1985).

- a. Pérdida del 25 % de las neuronas.
- b. Necrosis neuronal preferencial en sitios de mayor concentración de receptores de corticosteroides.
- c. Degeneración neuronal asociada con una hiperplasia glial compensadora.

El eje H-H-A exhibe un ritmo circadiano, es inhibido por los corticoides y se activa con el estrés. La secreción de corticoides inducida por el estrés no inhibe al eje corticotropo que se mantendría sensible para lograr la supervivencia. Hay un costo metabólico global para que el animal mantenga una actividad continua de dicho eje durante el estrés crónico (Dallman, 1993).

Los altos niveles hormonales y el estrés acentuaron la necrosis neuronal, hecho conocido como la hipótesis de la cascada de glucocorticoides que postula la importancia de los mismos y del estrés en el proceso de envejecimiento (Salposky y col., 1986).

Quizá un “buen envejecimiento” está directamente relacionado con el buen manejo de un estrés leve a moderado. En contraste, una exposición a un estrés severo y prolongado altera el control homeostático y lleva en forma inexorable al envejecimiento. El estrés en el adulto activa el eje H-H-A y ello implica aumento de la secreción de ACTH y altos niveles séricos de glucocorticoides frente a la emergencia.

Si el hipocampo está dañado no puede ejercer el efecto inhibitorio y los glucocorticoides permanecen elevados con un lentísimo retorno a los niveles basales (Timiras y col., 1995). Nuestro estudio IHQ se hizo en ratas jóvenes (3 meses), viejas (20 meses) y seniles (29 meses) de ambos sexos.

La **fig. 9.38** muestra el descenso del número de corticotropas en ratas envejecidas respecto a jóvenes.

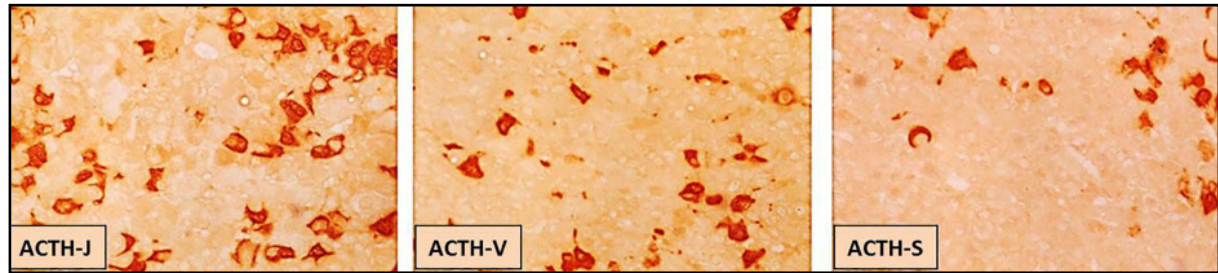


Fig. 9.38 Corticotropas. Ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) machos. (EnVision peroxidasa, anti-ACTH, x 200).

El estudio morfométrico registró un descenso significativo ($p < 0.01$) en la densidad de células (DC) y en la densidad de volumen (DV) en ratas viejas y seniles respecto a jóvenes de ambos sexos. No hubo cambios significativos en el área (A) y perímetro (P) celulares (**cuadros 9.7 y 9.8**).

Cuadro 9.7. Población corticotropa de ratas machos jóvenes, viejas y seniles

Parámetros	Joven (10)	Vieja (8)	Senil (8)
Area celular (A)	33.4 ± 2.0	32.5 ± 2.0 (NS)	33.1 ± 2.0 (NS)
Perímetro celular (P)	36.7 ± 2.1	37.4 ± 2.0 (NS)	37.6 ± 2.0 (NS)
DV (x 10 ⁻³)	6.5 ± 1.0	2.5 ± 0.7 *	1.6 ± 0.5 *
DC (x 10 ⁻⁵)	19.4 ± 2.0	7.8 ± 1.5 *	4.9 ± 1.0 *

Cada valor representa el promedio ± ES. Las diferencias de significancia estadística con respecto al grupo etéreo son indicadas: * $p < 0.01$; + $p < 0.05$, NS = no significativo. El número de animales se muestra entre paréntesis.

Cuadro 9.8. Población corticotropa de ratas hembras jóvenes, viejas y seniles

Parámetros	Joven (10)	Vieja (8)	Senil (8)
Area celular (A)	31.5 ± 1.8	31.9 ± 1.9 (NS)	32.8 ± 2.0 (NS)
Perímetro celular (P)	36.9 ± 2.0	37.8 ± 2.2 (NS)	37.9 ± 2.0 (NS)
DV (x 10 ⁻³)	6.6 ± 1.5	2.4 ± 0.8 *	2.0 ± 0.5 *
DC (x 10 ⁻⁵)	20.9 ± 3.0	7.6 ± 1.6 *	6.0 ± 1.3 *

Cada valor representa el promedio ± ES. Las diferencias de significancia estadística con respecto al grupo etéreo son indicadas: * $p < 0.01$; NS = no significativo. El número de animales se muestra entre paréntesis.

Gaal y col. (1979) no hallaron cambios sustanciales en las corticotropas de individuos sanos envejecidos. Sano y col. (1993) estudiaron las pituitarias de humanos envejecidos (80-90 años) y observaron aumento de la fibrosis, depósitos amiloides, descenso de la población somatotropa, adenomas pituitarios y presencia de corticotropas en el lóbulo posterior pituitario.

El mantenimiento de las corticotropas por autoduplicación contrasta con la respuesta proliferativa informada en las células indiferenciadas luego de la adrenalectomía. Si la reentrada de las corticotropas en el ciclo celular constituye un mecanismo normal para mantener un nivel basal de células adultas, dicho mecanismo también podría perturbarse en el desarrollo de un corticotropinoma (Langlais y col., 2013).

La concentración plasmática de glucocorticoides aumentó durante la senectud (Tang y Phillips, 1978; Salpolsky y col., 1983; Dekosky y col., 1984). El nivel de ACTH plasmática estuvo elevada en ratas envejecidas al final del ciclo diurno (Issa y col., 1990) y en condiciones de estrés (van Eekelen y col., 1992). Esto coincide con nuestros datos séricos que mostraron un incremento de la corticosterona en ratas machos envejecidas y un descenso en la secreción diurna en ratas viejas (Goya y col., 1989). Los ratones machos viejos mostraron menores niveles de corticosterona sérica, después de 8 hs de la inyección de dexametasona respecto a jóvenes (Harris y Saltzman, 2013).

En estudios tempranos realizados en humanos no se hallaron alteraciones en los niveles basales o estimulados de cortisol (Blichert-Toft y col., 1970), aunque la excreción diaria de metabolitos de corticosteroides estuvo disminuida (West y col., 1961).

Estudios posteriores han demostrado una alteración en el ritmo circadiano de la ACTH sérica en pacientes de 80 años (Lakata y col., 1984). En el estrés se detectaron altos niveles de cortisol en pacientes de edad avanzada (Blichert-Toft y col., 1975).

El envejecimiento estaría asociado a una disminución de la sensibilidad del eje corticotropo a los glucocorticoides en su acción inhibitoria mediante retroalimentación (Blackman, 1987). En agregado, Brudieux y col. (1995) estimularon con CRH a ratas viejas registrando un descenso en los niveles de ACTH/corticosterona y sugirieron alteraciones en la capacidad esteroidogénica de las células adrenocorticales para responder a la ACTH y una disminución de la habilidad de las corticotropas para producir ACTH.

Cizza y col. (1994) investigaron los efectos del envejecimiento sobre la regulación del eje H-H-A y los receptores esteroides del hipocampo y con la edad hallaron una deficiencia de CRH en receptores hipotalámicos por aumento de ARNm de arginina-vasopresina.

Heroux y col. (1991) demostraron en ratas envejecidas un descenso en los receptores de CRH de la hipófisis anterior que podría ser debida a una hipersecreción hipotalámica de CRH y no a una pérdida de corticotropas. El fitoestrógeno de soja o genisteína se consume como una alternativa terapéutica para las enfermedades relacionadas con la edad. La genisteína modularía las características morfo-funcionales de las corticotropas y disminuiría los niveles de ACTH en sangre (Milosevic y col., 2009).

La corteza adrenal en humanos y en algunas especies disminuye de peso durante el envejecimiento y en su histología se observa:

- a. Acúmulos de gránulos de lipofucsina (Sohal, 1981), inclusiones amiloides (Eriksson y Westermarck, 1990) e infiltración linfocítica (Hayashi y col., 1989).
- b. Fibrosis en el conectivo de sostén, en la cápsula adrenal y a nivel perivascular.
- c. Aterosclerosis en los vasos sanguíneos adrenales.

A pesar de dichos cambios morfológicos, los niveles basales de glucocorticoides no difirieron mucho entre humanos de edad media y avanzada (Jensen y Blichert-Toft, 1971; Waltman y col., 1991; Barton y col., 1993). La reducida esteroidogénesis en el envejecimiento se asocia a una menor respuesta de las células adrenocorticales a la ACTH y esto se debería a una pérdida de receptores, a alteraciones de membrana y a la menor disponibilidad de precursores.

Barton y col. (1993) mostraron que los niveles plasmáticos de cortisol y las pruebas de función adrenocortical no cambiaron con la edad. Se ha sugerido una reducción de la sensibilidad adrenal a la ACTH (Popplewell y col., 1987).

La declinación de la respuesta adrenal a la ACTH con la edad se debería a una menor entrega de colesterol a las mitocondrias responsables de la esteroidogénesis (Malamed y Carsia, 1983; Popplewell y col., 1987).

Si las cortezas adrenales responden menos a la ACTH, se exigirían mayores cantidades de ACTH y esto se detectaría a nivel hipofisario con una concentración elevada de la hormona (Tang y Phillips, 1978).

La eficiencia con que los glucocorticoides ejercen la retroalimentación declina con la edad. En ratas envejecidas, algunos componentes del eje pierden sensibilidad a dicha regulación, debido a que se produce resistencia a la dexametasona y los niveles de corticosterona endógena permanecen altos durante largo tiempo (Oxenkrug y col., 1984; Salpolsky y col., 1986).

Por ello, la hipersecreción de glucocorticoides en ratas viejas reflejaría una menor sensibilidad del eje a la regulación mediante la retroalimentación. La hipófisis envejecida sería menos hábil para responder a la CRH hipotalámica (Hylka y col., 1984).

El cerebro es el sitio más sensible del eje corticotropo frente a la inhibición por retroalimentación de los glucocorticoides (Levin y col., 1988).

Se realizaron estudios ultraestructurales y funcionales de la corteza-médula suprarrenal en ratas viejas, luego de estimulación eléctrica del núcleo ventro-medial del hipotálamo en ratas albinas adultas y viejas, detectándose un descenso en el control hipotalámico de las catecolaminas y en la síntesis de corticosteroides. El hipotálamo influyó más sobre las células adenomédulares que sobre las adrenocorticales (Shaposhnikov y Bezrukov, 1985).

A nivel ultraestructural (Jurado, 2003), en ratas jóvenes de ambos sexos se observan corticotropas con electrotransparencia, buen RER-Golgi y gránulos secretorios (200 nm) ubicados junto a la membrana plasmática (fig. 9.39).

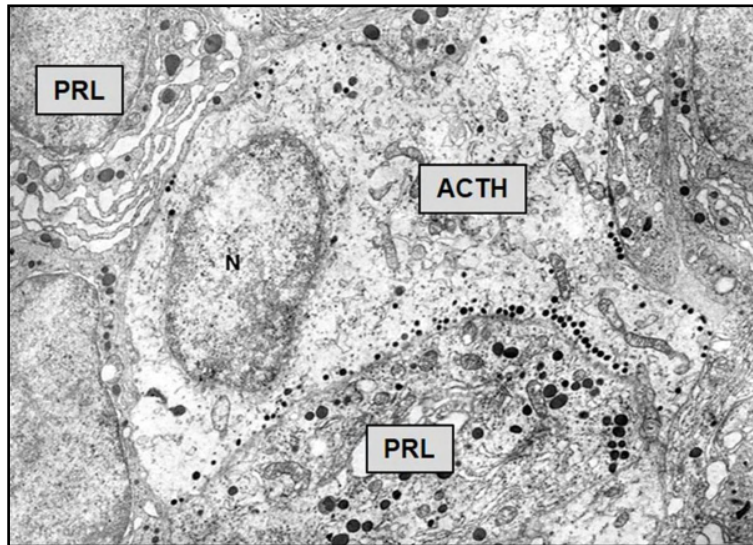


Fig. 9.39 Corticotropa de rata macho joven.
N: núcleo y gránulos secretorios alineados (x 10.000).

En las ratas viejas se ven algunas células hipertróficas con cisternas golgianas dilatadas y gránulos inmaduros, hipertrofia del RER, aumento de exocitosis y marcada granulolisis. Hay mayor actividad lisosómica.

En la **fig. 9.40** se muestra una célula corticotropa de rata macho joven con RER, mitocondrias, extenso complejo de Golgi, microtúbulos y gránulos secretorios alineados paralelos a la membrana plasmática.

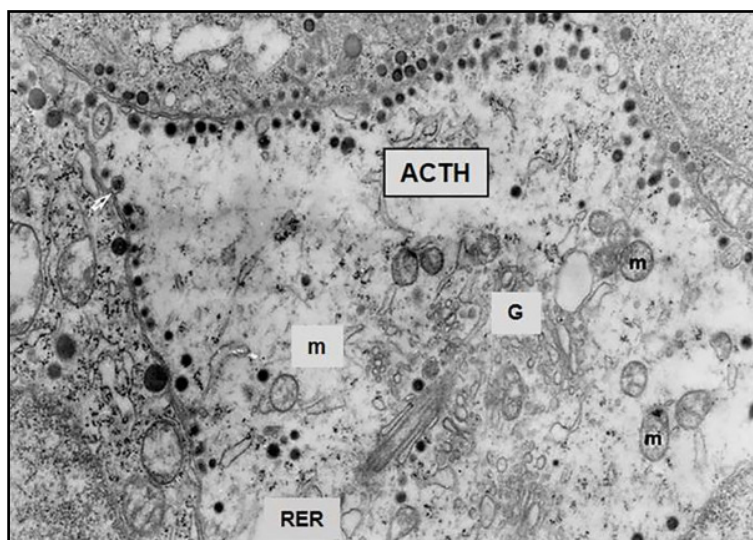


Fig. 9.40 Corticotropa: rata macho joven. Gránulos secretorios alineados (x 10.000).

En la **fig. 9.41** se ve corticotropa de rata macho vieja con RER y Golgi dilatados.

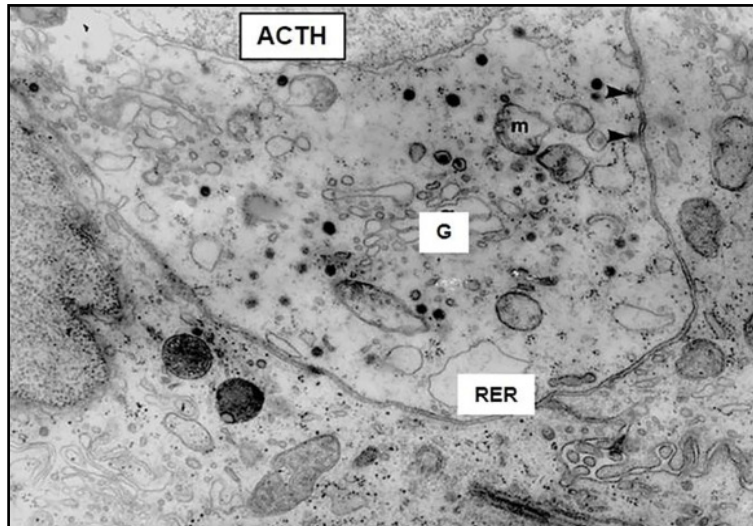


Fig. 9.41 Corticotropa: rata macho vieja: RER y Golgi (G) dilatados, mitocondrias (m)

Figs. 9.42-9.43: ratas seniles: dilatación de RER y Golgi, moderada tumefacción mitocondrial.

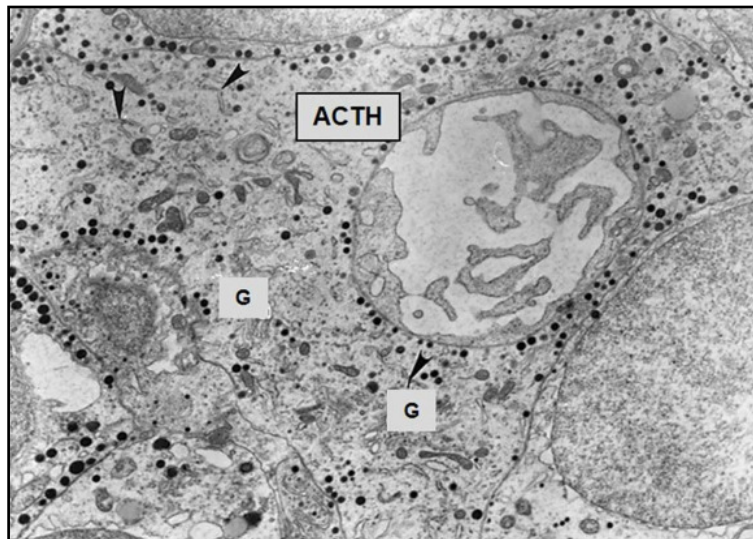


Fig. 9.42 Corticotropa de rata hembra senil. Golgi (G) y RER (flechas) (x 10.000).

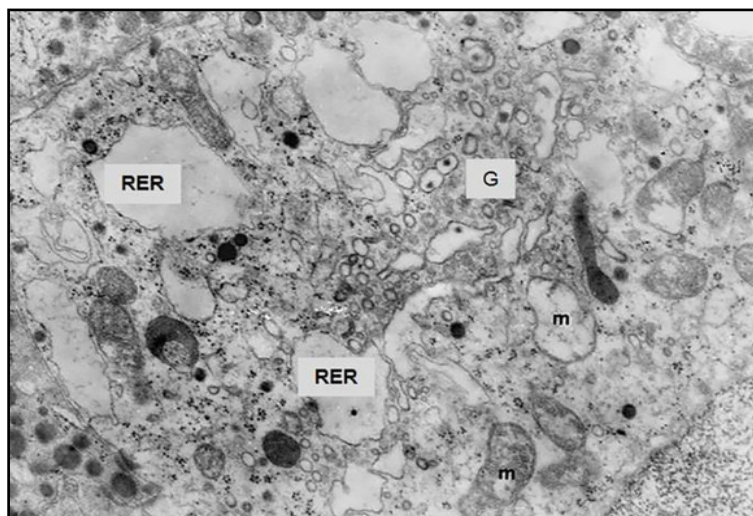


Fig. 9.43 Corticotropa de rata macho senil. Golgi (g) con numerosas vesículas, escasos gránulos secretorios, RER dilatado y mitocondrias (m) (x 24.000).

Concluyendo, el envejecimiento hipofisario presenta un eje H-H-A con:

1. Disminución de la respuesta hipotalámica a la retroalimentación ejercida por los glucocorticoides y una necrosis neuronal asociada a hiperplasia glial compensadora, con menor liberación de CRH hipotalámica.
2. Hiposensibilidad hipofisaria a la CRH que determina un descenso de la población corticotropa y alteraciones en su ultraestructura con dilatación del RER, Golgi expandido y tumefacción mitocondrial que provocan una alteración en la síntesis-liberación de la ACTH.
3. Cambios séricos con variaciones en los ritmos circadianos de ACTH y glucocorticoides.
4. Hiposensibilidad de los receptores córtico-adrenales a la ACTH y envejecimiento de la glándula adrenal con depósito de lipofucsina e inclusiones amiloides, fibrosis y aterosclerosis de los vasos sanguíneos adrenales.

9.8 Población folículo-estelar envejecida

Las células folículo-estelares (FE) fueron reconocidas por Rinehart y Farquhar (1955) e inmunomarcadas con proteína **S100** (Girod y col, 1985; Watanabe y Hashimoto, 1993). Los estudios morfológicos de la pituitaria anterior permitieron observar sus largas prolongaciones citoplasmáticas intercaladas entre las células endocrinas vecinas y sus conexiones con capilares a modo de “pies chupadores” de tipo glial.

Girod y col. (1986) indicaron la relación entre las células FE y las células secretorias, aplicando marcación inmunoenzimática doble. Horiguchi y col. (2010) observaron mediante fluorescencia células FE vivas con procesos citoplasmáticos entre las células endocrinas y conexiones con las FE vecinas que expresaron receptores de matriz extracelular (laminina, fibronectina y colágenos). La metaloproteína-9 se detectó en las células FE, siendo necesaria en la conexión intercelular y para su proliferación en presencia de laminina (Ilmiawati y col., 2012).

Además, Allaerts y col. (1996 y 1997b) hallaron una población de células estrelladas en hipófisis anterior que expresaron marcadores de **CMH-clase II**, morfología dendrítica y rasgos ultraestructurales de las células FE. La inmunomarcación de las células FE con una citoqueratina de bajo PM (**CK-8**) demuestra una diferenciación epitelial (Tsuchida y col., 1993). De acuerdo a Yamashita y col. (2005), en la adenohipófisis humana se inmunomarcaron células tipo citoqueratina (**CK**) positivas y células estrelladas **S100** positivas cercanas a las células endocrinas.

El desarrollo de las células FE en *pars distalis* de hipófisis fetal se investigó mediante inmunocitoquímica con proteína **S100** y proteína gliofibrilar ácida (**PGFA**), apareciendo a las 15 semanas y 18 semanas, respectivamente. Las diferencias temporales podrían indicar la presencia de dos tipos celulares o de uno solo en progresión. Las células FE se originarían cerca de la *pars intermedia* y luego pasarían a la *pars distalis* (Coates y Doniach, 1988). La **PGFA** puede ser considerada como marcadora de pituicitos y células FE (Redecker y Fechner, 1989).

Las células FE tienen un gran potencial de diferenciación con características similares a los astrocitos (Osuna y col., 2012). Horvath y Kovacs (2002) asignaron naturaleza multifacética a las células FE y sugirieron que representan un tipo pluripotencial de célula madre adulta. En base a este criterio se explicaría el pasaje de células endocrinas a FE mediante una retrodiferenciación de precursores derivados de la bolsa de Rathke. Las funciones de las células FE son probablemente reguladas por interacciones con la matriz extracelular e interactúan con los pericitos vía **TGFbeta2** (Tsukada y col., 2016). Las células FE cumplen funciones de soporte, trofismo, transferencia de iones y metabolitos, secreción de citoquinas y factores de crecimiento (Allaerts y col., 1990). En agregado, se comunicó que las células FE son fagocitos de los restos celulares (García Navarro y col., 1989) y de los cuerpos apoptóticos (Drewett y col., 1993; Claudius y col., 2006).

Allaerts y col. (1997a) hallaron una distribución heterogénea de las células FE mediante estudios IHQ y ultraestructurales.

Las células FE secretan moléculas diversas: interleuquina 6 (**IL-6**) (Vankelecom y col., 1993; Allaerts y col., 1997a), fibronectina, factor de crecimiento endotelial vascular (**VEGF**), factor de crecimiento fibroblástico (**FGF**) y factor inhibitorio de la leucemia (**LIF**) (Ferrara y col., 1992). La **IL-6**, sintetizada y secretada por las células FE (Vankelecom y col., 1989), estimuló la secreción de PRL, GH, FSH y LH *in vivo* (Spangelo y col., 1989). La liberación del polipéptido activador de la adenilato-ciclasa (**PACAP**) en la pituitaria ha sido detectado en la línea celular TtT/GF. Este factor estimuló la proliferación de las células FE, así como la producción de **IL-6** (Arimura, 1992; Matsumoto y col., 1993).

La presencia de uniones intercelulares en las prolongaciones de las células FE permitiría la transferencia de iones y metabolitos. Esto explica el aumento de estas células en la periferia de lesiones adenomatosas y necróticas. Las células FE ejercen funciones paracrinas que serían imprescindibles para el funcionamiento armónico de las células endocrinas (Coates y col., 1988). La red de células FE interconecta los diferentes folículos sugiriendo una estructura sincitial y los mensajes pasarían a través de las uniones hendidura (Soji y Herbert, 1989). Las lactotropas, somatotropas, luteinizantes y corticotropas en cultivo modificaron su respuesta a los diferentes agentes extracelulares, dependiendo de la proporción de células FE presentes (Allaerts y col., 1994). Harrison y col. (1982) demostraron en adenohipófisis de aves una relación morfológica y funcional entre tirotropas y células FE. Allaerts y col. (1994) trabajaron en cultivos de gonadotropas enriquecidos con células FE y observaron una atenuación en el porcentaje de secreción de LH frente a respuestas tempranas y tardías a la GnRH. Además, Katayama y col. (1992) sugirieron que las células FE de la pituitaria anterior estarían involucradas en la regulación paracrina y en la morfogénesis de las células foliculotropas, afectando la acción de la **activina A** mediada por la **folistatina**. En un cultivo monocapa de las células de la hipófisis anterior, los glucocorticoides aumentaron la actividad de una enzima que se halla en las células FE y es esencial para el metabolismo del glutamato en el sistema nervioso: la glutamina sintetasa (Shirasawa y Yamanouchi, 1999). La población FE contiene una proteína **S100** reactiva (Cocchia y Miani, 1980; Nakajima y col., 1980), capaz de estimular la secreción de PRL bajo ciertas condiciones como el descenso de la inhibición de la dopamina (Allaerts y col., 1990).

Aunque se han comunicado estudios IHQ cuantitativos de las células secretoras de hormonas de la pituitaria anterior en ratas viejas (Takahashi y Kawashima, 1983; Cónsole y col., 1994; 1995; 1997 y 1998; Jurado y col., 1998), escasos intentos han sido hecho para cuantificar los cambios progresivos en la población FE durante el envejecimiento en general o en un estadio avanzado de senescencia en particular.

Nuestro modelo experimental en *pars distalis* de ratas jóvenes (4 meses), viejas (20 meses) y seniles (29 meses), representa un equivalente a un modelo humano extendido hasta los 80-100 años. Realizamos un estudio IHQ morfométrico marcando la población FE con suero **anti-S100** (Cónsole y col., 2000). Las células FE se hallaron dispersas dentro de toda la *pars distalis* y alcanzaron un valor cercano al 2.5 % de la población total del parénquima (**fig. 9.44**).

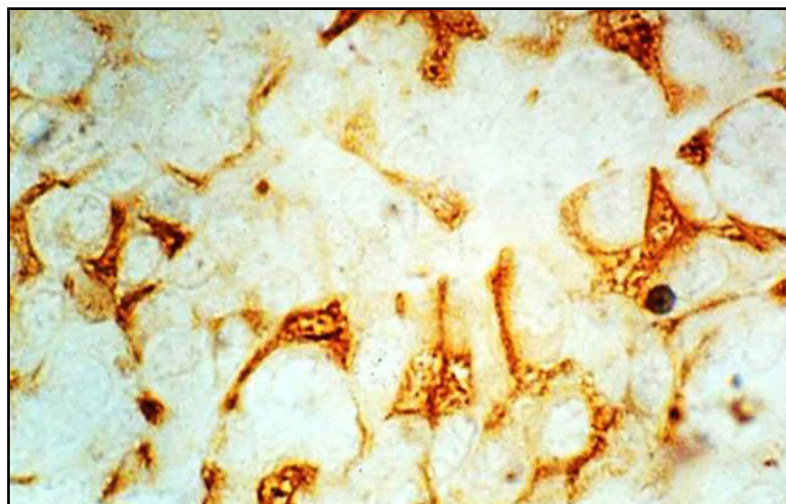


Fig. 9.44 Células FE (En Vision peroxidasa, anti-S100, x 600).

Estos datos estuvieron en concordancia con los valores de 1 a 6% publicados por otros autores (Girod y col., 1985; Girod y Trouillas, 1993). Poco se conoce acerca del efecto del envejecimiento sobre las células FE, a pesar de las múltiples funciones que han sido comunicadas. Hemos hallado una progresiva declinación del número de células FE con la edad en ratas machos y hembras que se evidenció aun antes de la evaluación morfométrica (**fig. 9.45**).

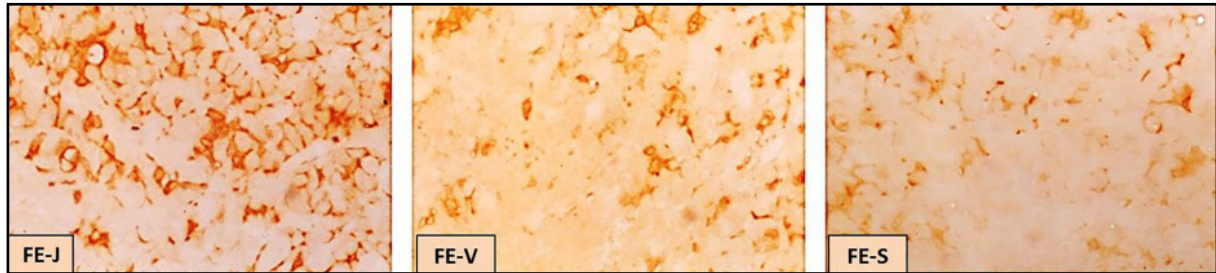


Fig. 9.45 Células FE de ratas jóvenes (J), viejas (V) y seniles (S) machos
(En Vision peroxidasa, anti-S100, x 400).

En la **fig. 9.46** se muestra una marcada hiperplasia de las células FE en la periferia de los microprolactinomas. En concordancia con nuestras observaciones, Farnoud y col. (1994) describieron células FE concentradas a nivel peritumoral. También Nishioka y col., (1991) hallaron numerosas células FE bordeando el adenoma, sugiriendo una asociación entre las células FE y el tejido nervioso glial. Esta distribución característica de las células FE inmunorreactivas se logró a nivel experimental mediante un tratamiento a largo plazo con estrógenos que fue prevenido con progesterona (Heinzlmann y Koves, 2008).

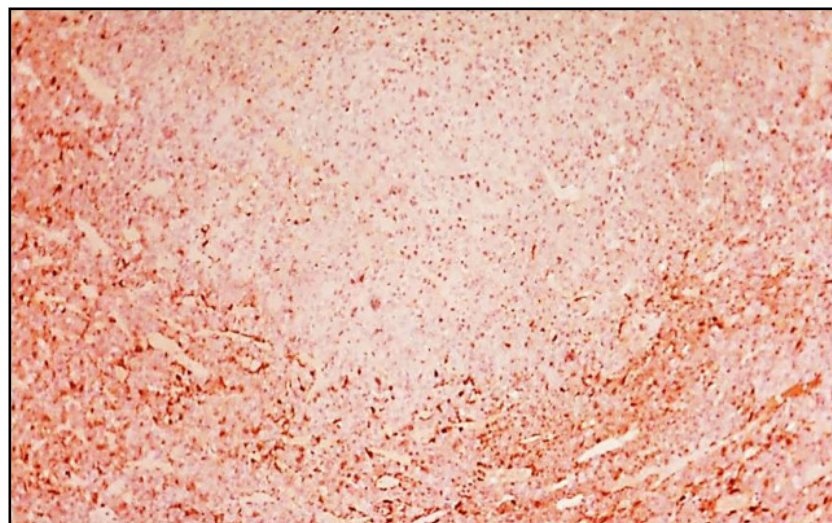


Fig. 9.46 Microprolactinoma. Hiperplasia peritumoral de células FE.
(En Vision peroxidasa, anti-S100, x 200).

Las células FE S100 positivas están presentes en pituitarias normales e hiperplásicas y regularían la secreción de PRL mediante mecanismos paracrinos (Lloyd y Mailloux, 1988). Kameda (1991) comunicó la presencia de folículos con inclusiones coloidales, filamentos intermedios y numerosos lisosomas en las células FE de *pars distalis* durante el envejecimiento. El análisis de los parámetros morfológicos (Cónsole y col., 2000) reveló un descenso significativo ($p < 0.05$) en la densidad de volumen (DV) y en la densidad de células (DC) de ratas viejas y seniles respecto a jóvenes de ambos sexos. No se halló dimorfismo sexual excepto en el grupo de hembras portadoras de prolactinomas (**cuadro 9.10**).

Cuadro 9.10. Morfometría de las células FE de ratas jóvenes, viejas y seniles

Hembras	DV (x 10⁻²)	DV (valor de p)	DC (x 10⁻⁴)	DC (valor de p)
Joven (6) (a)	2.14 ± 0.68	a-b : p < (0.05)	4.66 ± 1.48	a-b p < (0.05)
Vieja (6) (b)	0.63 ± 0.12	b-c NS; b-d NS	1.35 ± 0.27	b-c NS; b-d NS
Senil (5) (c)	0.35 ± 0.05	a-c : p < (0.05)	0.76 ± 0.12	a-c p < (0.05)
Senil-PRL (4) (d)	1.55 ± 0.31	a-d NS; c-d p<(0.02)	3.36 ± 0.68	a-d NS; c-d p < (0.02)
Machos	DV (x 10⁻²)	DV (valor de p)	DC (x 10⁻⁴)	DC (valor de p)
Joven (6) (a)	2.21 ± 0.65	a-b : p < (0.05)	4.80 ± 1.41	a-b : p < (0.05)
Vieja (6) (b)	0.80 ± 0.09	b-c = NS	1.47 ± 0.59	b-c = NS
Senil (4) (c)	0.40 ± 0.04	a-c : p < (0.05)	0.89 ± 0.09	a-c : p < (0.05)

DV: densidad de volumen; DC: densidad celular. Los valores son expresados como media ± ES; número de ratas entre paréntesis (Cónsole y col., 2000).

Estos resultados estuvieron en contraposición con los hallazgos de Pavlovic y col. (2013), quienes mediante un estudio IHQ comunicaron el aumento de las células FE con la edad. El envejecimiento produjo marcados cambios morfológicos en las células endocrinas según lo comunicado mediante IHQ cuantitativa (Takahashi y Kawashima, 1983; Cónsole y col., 1994; 1995; 1997), así como mediante observaciones ultraestructurales (Jurado y col., 1998; Cónsole y col., 1998). En el estudio ultraestructural (Cónsole y col., 2000) las FE de las ratas jóvenes presentan un citoplasma electrotransparente desprovisto de gránulos secretorios y largas prolongaciones que se entremezclan con las células endocrinas (**fig. 9.47**).

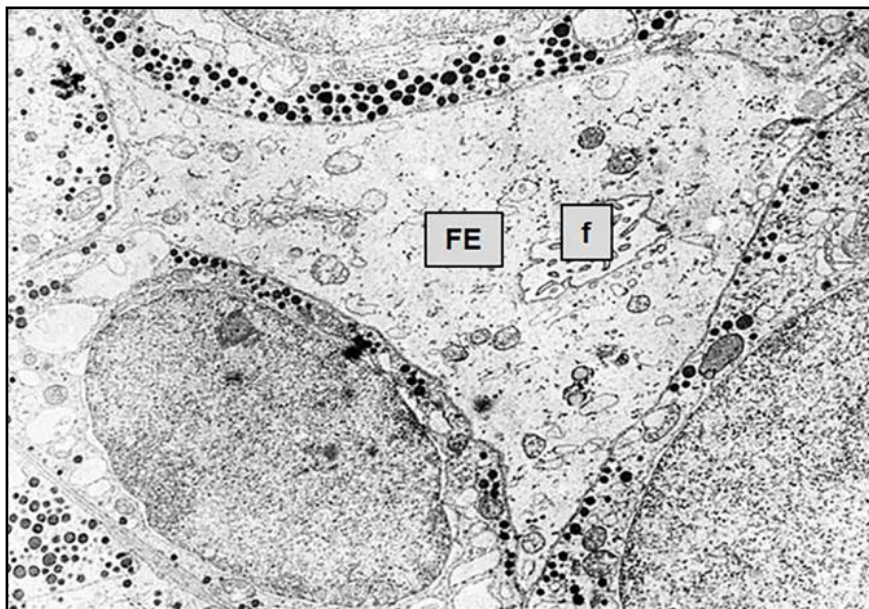


Fig. 9.47 Célula FE de rata macho joven. Folículo (f) (x 24.000). (Cónsole y col., 2000).

En la **fig. 9.48** se ve una prolongación citoplasmática de FE entre células endocrinas.

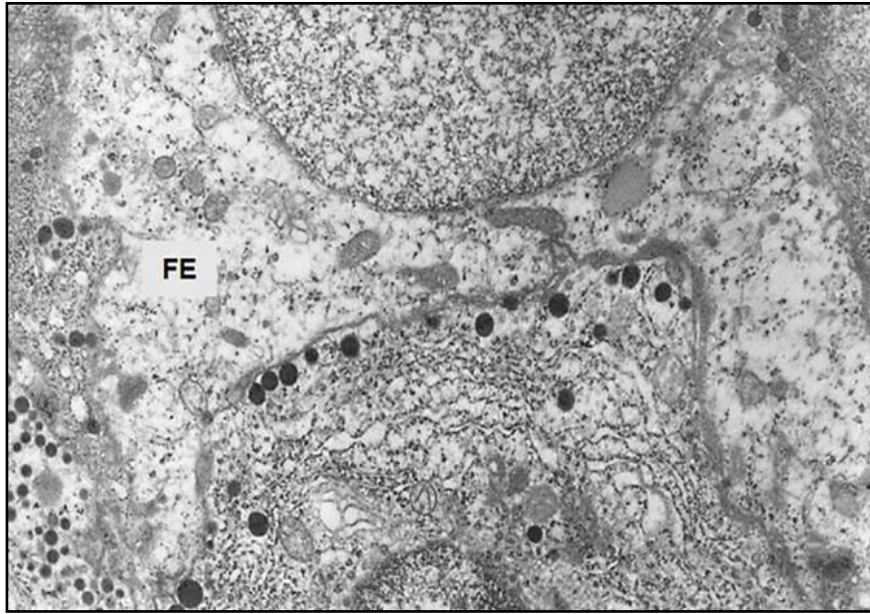


Fig. 9.48 Célula FE de rata macho joven. Prolongación citoplasmática de FE entre células vecinas y polirribosomas en el citoplasma (x 12.000) (Cónsole y col., 2000).

La **fig. 9.49** muestra un folículo de FE con microvellosidades.

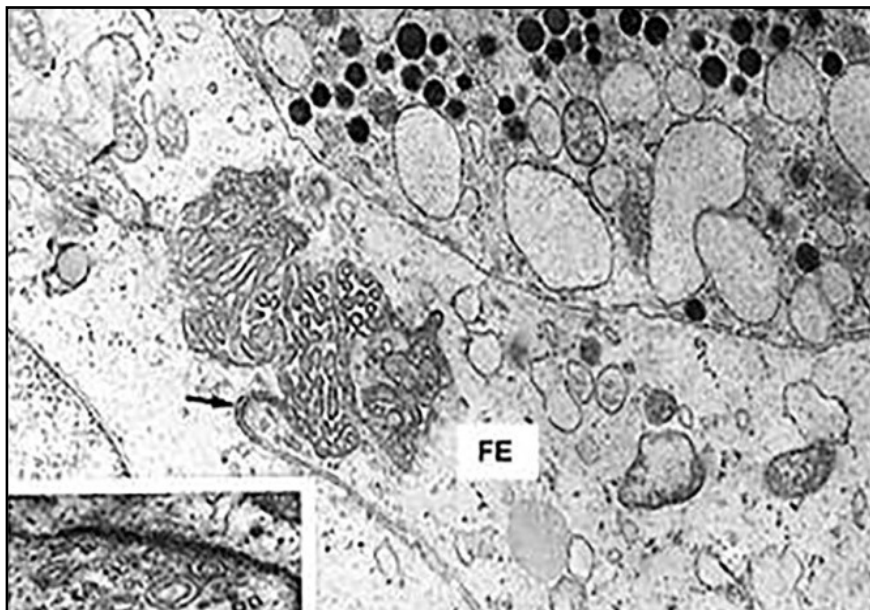


Fig. 9.49 Células FE de rata joven hembra. Folículo con microvellosidades (x13.000). Recuadro: unión hendidura entre células FE (x 20.000).

En ratas viejas se ve RER dilatado con un contenido electrodenso (figs. 9.50 - 9.51).

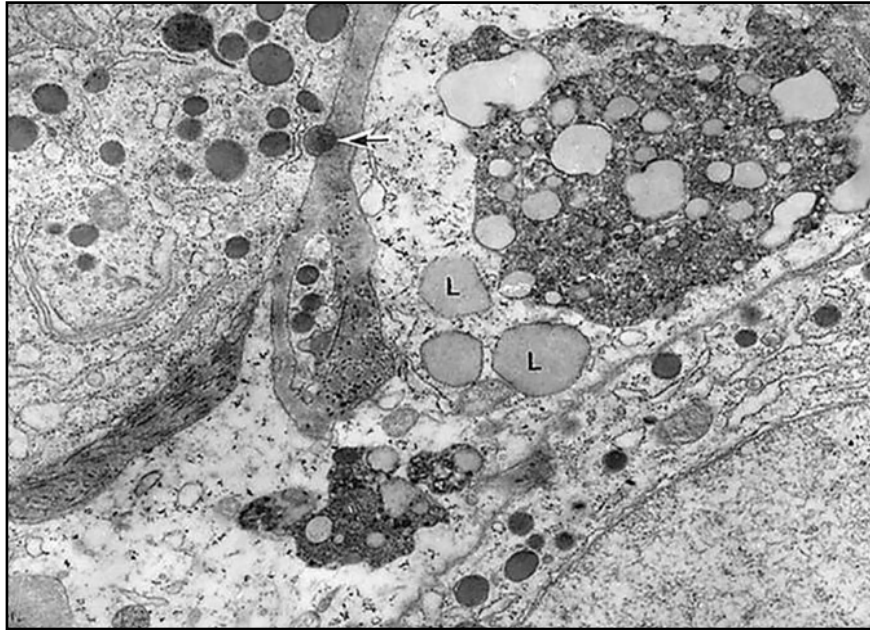


Fig. 9.50 Células FE de rata hembra vieja. RER dilatado, lisosomas, gotas de lípidos (L) y exocitosis (flecha) (x 20.000).

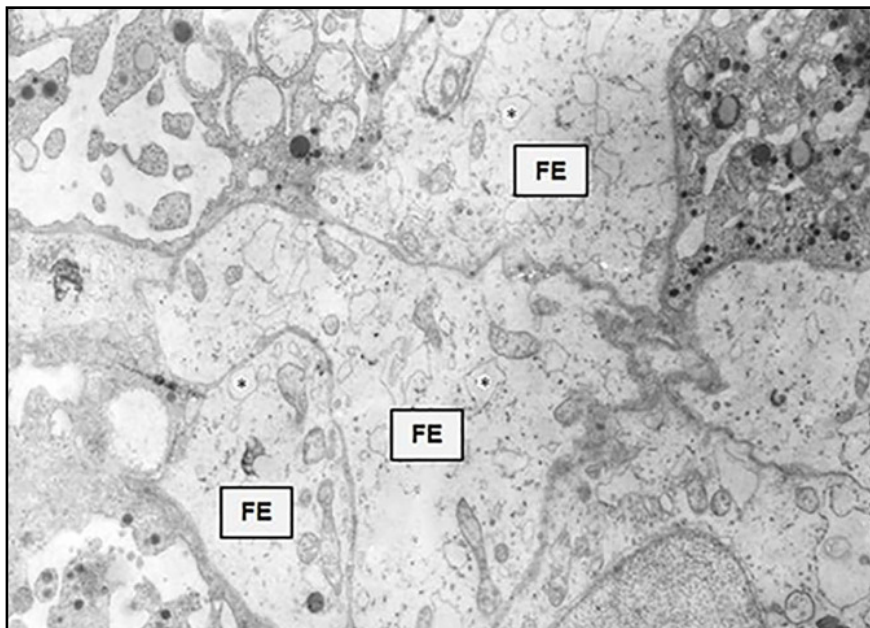


Fig. 9.51 Células FE de rata hembra vieja. Cisternas de RER (*) dilatadas (x 12.000).

En las ratas seniles se observan cisternas dilatadas de RER con material moderadamente denso y procesos de autofagia lisosómica (Figs. 9.52-9.53).

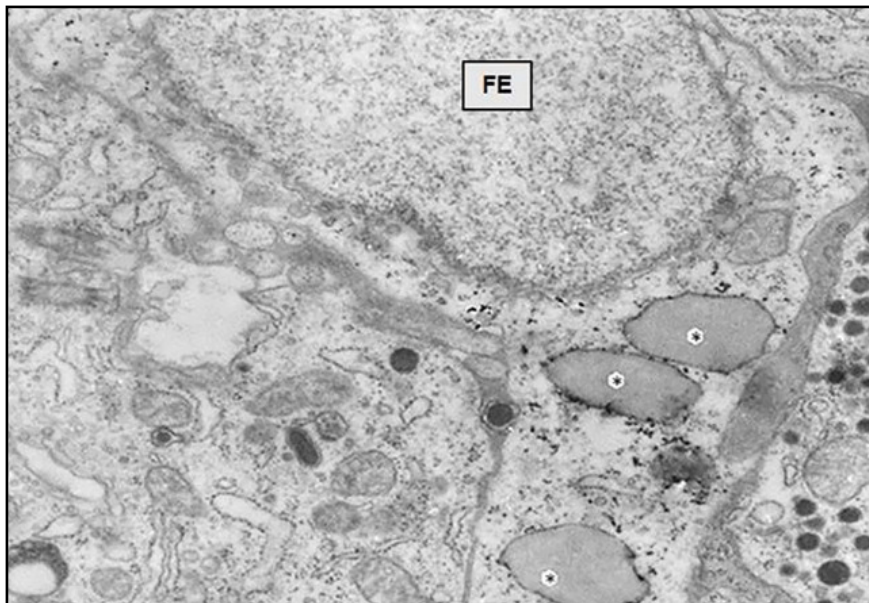


Fig. 9.52 Células FE de rata hembra senil. RER (*) dilatado con material de densidad moderada y ribosomas adheridos (x 24.000).

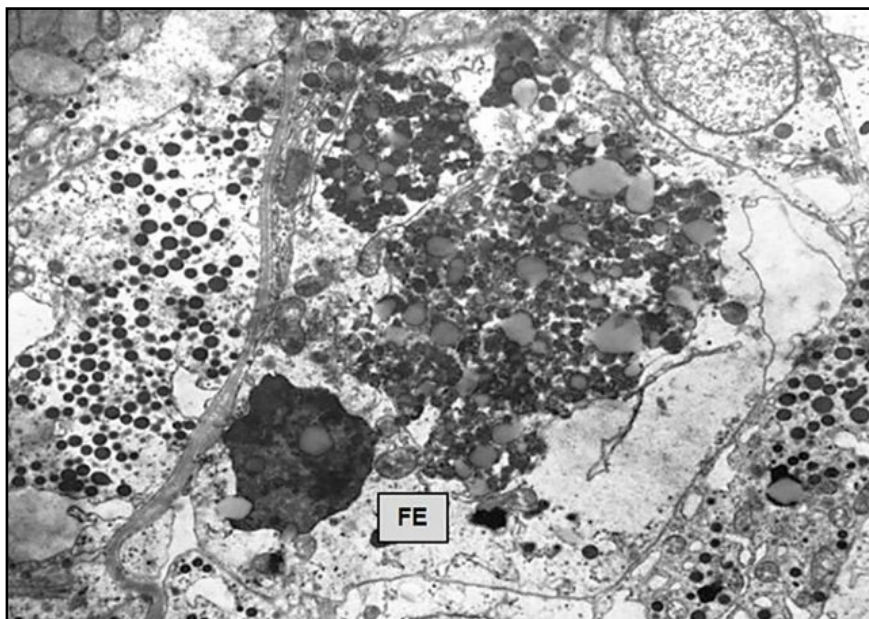


Fig. 9.53 Células FE de rata hembra senil. Proceso autofágico lisosómico (x 10.000).

La ultraestructura de las células FE permite detectar una red que envía procesos citoplasmáticos entre las células endocrinas y presenta cavidades foliculares con coloide, cilias y microvellosidades. Harrison y col. (1982) logró una manipulación experimental al administrar TRH y observó cambios ultraestructurales: RER dilatado, Golgi expandido, gránulos secretorios recién sintetizados y dilatación de las cavidades foliculares llenas de coloide. La presencia de un sistema de folículos interrelacionados en la adenohipófisis podría indicar la presencia de un sincitio con señales de

transmisión a través de las uniones hendidura. Tales uniones metabólicas aumentan rápidamente con la edad hasta los 40-45 días (Soji y col., 1997) y responderían a señales intracelulares específicas que inducen el cierre del canal en un proceso reversible (Godwin y col., 1993). Morand y col. (1996), usando una prueba fluorescente en cultivo demostraron que los cinco tipos celulares endocrinos de la pituitaria anterior de rata, así como las células FE están funcionalmente acopladas a través de las uniones hendidura. Kurono y col. (1994) detectaron uniones de tipo septal que tendrían una función de sostén de los folículos. Nuestras observaciones permitieron detectar uniones hendidura entre células FE.

Concluyendo, nuestros estudios iHQ y ultraestructurales de la población FE se correlacionaron y mostraron un marcado descenso de las células FE en ratas viejas y seniles.

Referencias

- Abad M et al. La reprogramación in vivo produce teratomas y células iPS con características de totipotencia. *Nature* 502:340-345, 2013.
- Aguilera T. HPA axis responsiveness to stress: implications for healthy aging. *Exp Gerontol* 46(2-3):90-95, 2011.
- Allaerts W et al. A population of interstitial cells in the anterior pituitary with a hematopoietic origin and a rapid turnover: a relationship with folliculo-stellate cells? *J Neuroimmunol* 78(1-2):184-197, 1997b.
- Allaerts W et al. Heterogeneity of pituitary folliculo-stellate cells: implications for interleukin-6 production and accessory function in vitro. *J Neuroendocrinol* 9(1):43-53, 1997a.
- Allaerts W et al. Immunohistochemical, morphological and ultrastructural resemblance between dendritic cells and folliculo-stellate cells in normal human and rat anterior pituitaries. *J Neuroendocrinol* 8(1):17-29, 1996.
- Allaerts W et al. Influence of folliculo-stellate cells on biphasic luteinizing hormone secretion response to gonadotropin-releasing hormone in rat pituitary cell aggregates. *Eur J Endocrinol* 130(5):530-539, 1994.
- Allaerts W, Carmeliet P, Deneef C. New perspectives in the function of pituitary folliculo-stellate cells. *Mol Cell Endocrinol* 71(2):73-81, 1990.
- Ames BN. Daño, envejecimiento y cáncer del ADN oxidativo endógeno. *Free Radic Res Commun* 7:121-128, 1989.
- Andziak B et al. Altos niveles de daño oxidativo en el roedor más longevo, la rata topo desnuda. *Célula de envejecimiento* 5:463-471, 2006.
- Arimura P. Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP): discovery and current status of search. *Regul Pept* 37(3):287-303, 1992.
- Atwood CS, Bowen RL. The reproductive-cell cycle theory of aging: an update. *Exp Gerontol* 46(2-3):100-107, 2011.
- Blackman MR. Pituitary hormones and aging. *Endocrinol Metab Clin North Am* 16(4):981-994, 1987.
- Blichert-Toft M. Secretion of corticotrophin and somatotrophin by the senescent adenohypophysis in man. *Acta Endocrinol Suppl (Copenh)* 78(195): 15-154, 1975.
- Blumenthal HT, Perlstein IB. The aging thyroid I. A description of lesions and an analysis of their age and sex distribution. *J Am Geriatr Soc* 35(9):843-854, 1987.
- Brett LP et al. The pituitary-adrenal response to novel stimulation and ether stress in young adult and aged rats. *Neurobiol Aging* 4(2):133-138, 1983.
- Buffenstein R et al. La teoría del envejecimiento del estrés oxidativo: ¿asediada o invencible? Conocimientos de organismos modelo no tradicionales. *Age (Dordr)* 30:99-109, 2008.
- Campisi J, Vijg J. ¿El daño al ADN y otras macromoléculas juega un papel en el envejecimiento? ¿Si es así, cómo? *J Gerontol A Biol Sci Med* 64:175-178, 2009.
- Chiavellini P et al. Envejecimiento y rejuvenecimiento: un modelo de epigenoma modular. *Ageing (Albany NY)* 13(4): 4734-4746, 2021.
- Cizza G et al. Male Fischer 344/N rats show a progressive central impairment of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis with advancing age. *Endocrinology* 134(4):1611-20, 1994.
- Coates PJ, Doniach I. Development of folliculo-stellate cells in the human pituitary. *Acta Endocrinol (Copenh)* 119(1):16-20, 1988.
- Cocchia D, Miani N. Immunohistochemical localization of the brain-specific S-100 protein in the pituitary gland of adult rat. *J Neurocytol* 9(6):771-782, 1980.
- Cónsole GM, Gómez Dumm CL, Brown OA, Ferese C, Goya RG. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 95(3):157-166, 1997c.
- Cónsole GM, Gómez Dumm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological study of pituitary gonadotrophs during aging in male rats. *Mech Ageing Dev* 73(2):87-95, 1994.

- Cónsole GM, Gómez Dumm CL, Goya RG. Immunohistochemical and radioimmunological assessment of thyrotrophs in the pituitary of aging rats. *Acta Anat* 152(1):28-32, 1995.
- Cónsole GM, Gómez Dumm CL, Goya RG. Impact of aging on the morphology and function of the somatotroph cell population in rats. *Mech Ageing Dev* 70(1-2):45-51, 1993.
- Cónsole GM, Jurado SB, Ferese C, Gómez Dumm CL. Quantitative immunohistochemical changes of pituitary gonadotrophs in male and female rats during ageing. *Sci Morph* 3(1):19-26, 1997a.
- Cónsole GM, Jurado SB, Gómez Dumm CL. Fluctuations of the pituitary thyrotropes in male and female rats during ageing. *Sci Morph* 3(1):3-8, 1997b.
- Cónsole GM, Jurado SB, Gómez Dumm CL. Immunohistochemical and ultrastructural age-related changes in rat lactotroph cells. *Biocell* 22(3):197-205, 1998.
- Cónsole GM, Jurado SB, Riccillo FL, Gómez Dumm CL. Immunohistochemical and ultrastructural study of pituitary folliculostellate cells during aging in rats. *Cell Tissues Organs* 167(1):25-32, 2000.
- Croxson MS, Wilson TM, Ballantyne GH. TRH testing, T4-thyrotoxicosis and the aging thyroid gland. *N Z Med J* 93(686):417-420, 1981.
- Dawkins R, Wong Y. *El cuento del antepasado: una peregrinación al amanecer de la vida*. 2. Nueva York: Mariner Books Ltd; 2016.
- de Lima LP, Quinlan RBA. Un paseo por el paisaje epigenético: reversión del envejecimiento. *Geroscience* 43(2):463-485, 2021.
- Deslypere JP et al. Influence of age on pulsatile luteinizing hormone release and responsiveness of the gonadotrophs to sex hormone feedback in men. *J Clin Endocrinol Metab* 64(1):68-73, 1987.
- Donda A et al. Influence of age on the control of thyrotropin secretion by thyrotropin-releasing hormone in the male rat. *Neuroendocrinology* 49(4):389-394, 1989.
- Donda A et al. Influence of sex and age on T3 receptors and T3 concentration in the pituitary gland of the rat: consequences on TSH secretion. *Mol Cell Endocrinol* 54(1):29-34, 1987.
- Eriksson L, Westermark P. Age-related accumulation of amyloid inclusions in adrenal cortical cells. *Am J Pathol* 136(2):461-466, 1990.
- Everitt AV, Meites J. Aging and anti-aging effects of hormones. *J Gerontol* 44(6): B139-147, 1989.
- Farnoud MR et al. Interactions between normal and tumoral tissues at the boundary of human anterior pituitary adenomas. An immunohistochemical study. *Virchows Arch* 424(1):75-82, 1994.
- Fukuda H et al. Nyctohemeral and sex-related variations in plasma thyrotropin, thyroxine and triiodothyronine. *Endocrinology* 97(6):1424-31, 1975.
- Gaal JM, Ryan N, Kovacs K. Corticotroph cells of the human pituitary in old age. *Z Mikrosk Anat Forsch* 93(5):992-998, 1979.
- Garner HS, Bernick S. Effect of age upon the thyroid gland and pituitary thyrotrophs of the rat. *J Gerontol* 30(2):137-148, 1975.
- Girod C, Trouillas J, Dubois PM. Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of the anterior lobe of the normal human pituitary. *Cell Tissue Res* 241(3):505-51, 1985.
- Girod C, Trouillas J, Raccurt M, Dubois MP. Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of adenohypophysis in the monkeys *Macaca irus* and *Cercopithecus aethiops*. *Cell Tissue Res* 246(2):237-242, 1986.
- Girod C, Trouillas J. Hypophyse: embriologie, anatomie et histologie. *Encycl Med Chir (Paris, France), Endocrinologie-Nutrition* 10-017-A-10, 1:1-24, 1993.
- Goldman JM et al. Age-related changes in the regional distribution of hormones in the male rat anterior pituitary. *Biochem Biophys Res Commun* 152(3):1213-20, 1988.
- Goya RG et al. Immune-neuroendocrine interactions during aging: age-dependent thyrotropin-inhibiting activity of thymosin peptides. *Mech Ageing Dev* 41(3):219-227, 1987.
- Goya RG et al. Rejuvenecimiento por reprogramación celular: un nuevo horizonte en gerontología. *Stem Cell Research & Therapy* 9:349, 2018.
- Goya RG, Quigley KL, Takahashi S, Sosa YE, Meites J. Changes in somatotropin and thyrotropin secretory patterns in aging rats. *Neurobiol Aging* 11(6):625-630, 1990.

- Gurdon JB. La capacidad de desarrollo de los núcleos extraídos de las células del epitelio intestinal de los renacuajos que se alimentan. *J Embryol Exp Morphol* 2,10:622-640, 1962.
- Han S, Brunet A. La metilación de histonas deja su huella en la longevidad. *Trends Cell Biol* 22:42-49, 2012.
- Harman D. Envejecimiento: una teoría basada en los radicales libres y la química de la radiación. *J Gerontol* 11:298-300, 1956.
- Harrison F, Van Hoof J, Vakaet L. The relationship between the folliculo-stellate network and the thyrotropic cells of the avian adenohypophysis. *Cell Tissue Res* 226(1):97-111, 1982.
- Hashizume O et al. La regulación epigenética de los genes GCAT y SHMT2 con codificación nuclear confiere defectos de la respiración mitocondrial asociados con la edad humana. *Sci Rep* 5:10, 2015.
- Horvath E, Kovacs K. Folliculo-stellate cells of human pituitary: a type of adult stem cell? *Ultrastruct Pathol* 26(4):219-228, 2002.
- Horvath S et al. La enfermedad de Huntington acelera el envejecimiento epigenético del cerebro humano y altera los niveles de metilación del ADN. *Ageing* 8:1485-1512, 2016.
- Horvath S, Raj K. Biomarcadores basados en la metilación del ADN y la teoría del envejecimiento del reloj epigenético. *Nat Rev Genet*, 2018.
- Horvath S et al. Disminución de la edad epigenética de las PBMC de semi-supercentenarios italianos y su descendencia. *Albany: Ageing* 7:1159-70, 2015.
- Horvath S, Ritz BR. Aumento de la edad epigenética y el recuento de granulocitos en la sangre de los pacientes con enfermedad de Parkinson. *Albany: Ageing* 7:1130-42, 2015.
- Horvath S. Edad de metilación del ADN de tejidos humanos y tipos de células. *Genome Biol* 14:R115-R133, 2013.
- Huang HH, Marshall S, Meites J. Capacity of old versus young female rats to secrete LH, FSH and prolactin. *Biol Reprod* 14(5):538-543, 1976.
- Huang HH, Steger RW, Bruni JF, Meites J. Patterns of sex steroid and gonadotropin secretion in aging female rats. *Endocrinology* 103(5):1855-59, 1978.
- Jurado SB, Cónsole GM, Gómez Dumm CL. Sexually dimorphic effects of aging on rat somatotroph cells. An immunohistochemical and ultrastructural study. *J Vet Med Sci* 60(6):705-711, 1998.
- Jurado SB. Impacto del envejecimiento sobre las poblaciones adenohipofisarias de la rata. Estudio inmunocitoquímico y ultraestructural. Tesis doctoral. Directores: Dres. Gómez Dumm C y Cónsole G, 2003.
- Kameda Y. Occurrence of colloid-containing follicles in the pars distalis of pituitary glands from aging guinea pigs. *Cell Tissue Res* 263(1):115-124, 1991.
- Katayama T et al. Paracrine effect of folliculo-stellate cells on the growth factor-like action of activin A in anterior pituitary cultures. *Endocrinol Jpn* 39(3):289-297, 1992.
- Klug TL, Adelman RC. Altered hypothalamic-pituitary regulation of thyrotropin in male rats during aging. *Endocrinology* 104(4):1136-42, 1979.
- Klug TL, Adelman RC. Evidence for large thyrotropin and its accumulation during aging in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 77(4):1431-1437, 1977.
- Krieg RJ, Brito AN, Sayles TE, Matt DW. Luteinizing hormone secretion by dispersed pituitary gland cells from middle-aged rats. *Neuroendocrinology* 1995; 61(3):318-325.
- Kudryavtseva AV et al. Disfunción mitocondrial y estrés oxidativo en el envejecimiento y el cáncer. *Oncotarget* 7:44879-44905, 2016.
- Kurono C et al. Septate-like junctions in the normal male rat pituitary gland. *Tissue Cell* 26(6):913-916, 1994.
- Kurosumi K et al. Immunoelectron microscopic studies of gonadotrophs in the male and female rat anterior pituitaries, with special reference to their changes with aging. *Arch Histol Cytol* 1991; 54(5):559-571.
- Lapasset L et al. Rejuvenecer las células humanas senescentes y centenarias reprogramando a través del estado pluripotente. *Genes Dev* 25:2248-2253, 2011.
- Lázaro I et al. La expresión del factor de transcripción transitoria (OSKM) es clave para la traducción clínica de la reprogramación celular in vivo. *EMBO Mol Med* 9:733-736, 2017.
- Lehmann M et al. Un modelo jerárquico para el control del envejecimiento epigenético en mamíferos. *Ageing Res Rev* 62:101134, 2020.

- Liu TC, Pu HF, Wang PS. Unimpaired postreceptor regulation of luteinizing hormone secretion by gonadotropin-releasing and estrogen in aged rat anterior pituitary cells. *Endocrinology* 132(3):1189-94, 1993.
- Lloyd RV, Mailloux J. Analysis of S-100 protein positive folliculo-stellate cells in rat pituitary tissues. *Am J Pathol* 133(2):338-346, 1998.
- López-León M, Outeiro TF, Goya RG. Reprogramación celular: potencial terapéutico y promesa de rejuvenecimiento para el cerebro envejecido. *Age Res Rev* 40:168-181, 2017.
- López-León M, Goya RG. La visión emergente del envejecimiento como un proceso epigenético reversible. *Stem Cell Res Ther* 9(1): 349, 2018.
- Lu KH, Hopper BR, Vargo TM, Yen SS. Chronological changes in sex steroids, gonadotropin and prolactin secretions in aging female rats displaying different reproductive states. *Biol Reprod* 21(1):193-203, 1979.
- Lu KH. Changes in ovarian secretion and gonadotropin and prolactin secretion in aging female rats. *Neuroendocrinology of aging*. In: Meites J. ed., Plenum Press, New York, 1983:103-122.
- Malamed S, Carsia RV. Aging of the rat adrenocortical cell: response to ACTH and cyclic AMP in vitro. *J Gerontol* 38(2):130-136, 1983.
- Matsumoto H et al. Pituitary folliculo-stellate-like cell line (TtT/GF) responds to novel hypophysiotropic peptide (pituitary adenylate cyclase-activating peptide), showing increased adenosine 3', 5'-monophosphate and interleukin-6 secretion and cell proliferation. *Endocrinology* 133(5):2150-55, 1993.
- Meites J, Steger RW, Huang HH. Relation of neuroendocrine system to the reproductive decline in aging rats and human subjects. *Fed Proc* 39(14):3168-72, 1980.
- Meites J. Changes in neuroendocrine control of anterior pituitary function during aging. *Neuroendocrinology* 34(2):151-156, 1982.
- Meites J. Role of hypothalamic catecholamines in aging process. *Acta Endocrinol (Copenh)* 125(Suppl 1):98-103, 1991.
- Meites J. The neuroendocrinology of hypothalamic aging. *Neuroendocrine perspectives*. In: Muller EE and MacLeod RM eds., Elsevier. Amsterdam :179-190, 1986.
- Mertens J et al. Las neuronas humanas reprogramadas directamente conservan las firmas transcripcionales asociadas al envejecimiento y revelan defectos nucleocitoplasmáticos relacionados con la edad. *Célula madre celular* 17:705-718, 2015.
- Mistriotis P et al. NANOG invierte el potencial de diferenciación miogénica de las células madre senescentes al restaurar la organización filamentosa de ACTIN y la expresión génica dependiente de SRF. *Células madre* 35:207-221, 2017.
- Morand I et al. Cell-to-cell communication in the anterior pituitary: evidence for gap junction-mediated exchanges between endocrine cells and folliculo-stellate cells. *Endocrinology* 137(8):3356-67, 1996.
- Nakajima T et al. S-100 protein in folliculo-stellate cells of the rat pituitary anterior lobe. *Brain Res* 191(2):523-531, 1980.
- Nishimura T et al. Generación de células T específicas de antígeno rejuvenecidas mediante reprogramación para pluripotencia y rediferenciación. *Célula madre celular* 13, 12:114-126, 2013.
- Nishioka H, Llena JF, Hirano A. Immunohistochemical study of folliculo-stellate cells in pituitary lesions. *Endocr Pathol* 2:155-160, 1991.
- Ocampo A et al. Mejoría in vivo de las características asociadas a la edad mediante una reprogramación parcial. *Cell* 167:1719-1733, 2016.
- Ohnishi K et al. Terminación prematura de la reprogramación in vivo conduce al desarrollo del cáncer a través de la regulación epigenética alterada. *Cell* 156:663-677, 2014.
- Osuna M et al. Differentiation capacity of native pituitary folliculostellate cells and brain astrocytes. *J Endocrinol* 213(3):231-237, 2012.
- Pavlovic M et al. Morphometric analysis of the human anterior pituitary's folliculosatellite cells during aging process. *Ann Anat* 195(3):231-237, 2013.
- Pekary AE et al. Preferential release of triiodothyronine: an intrathyroidal adaptation to reduced serum thyroxine in aging rats. *J Gerontol* 38(6):653-659, 1983.

- Pekary AE et al. Thyrotropin-releasing hormone levels decrease in hypothalamus of aging rats. *Neurobiol Aging* 5(3):221-226, 1984.
- Peng MT. Changes in hormone uptake and receptors in the hypothalamus during aging. *Neuroendocrinology of aging*. In: Meites J, ed., Plenum Press, New York, 1983:61-72.
- Petkovich DA et al. Uso de perfiles de metilación de ADN para evaluar intervenciones de edad biológica y longevidad. *Cell Metab* 25:954-960, 2017.
- Phifer RF, Midgley AR, Spicer SS. Immunohistologic and histologic evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone are present in the same cell type in the human pars distalis. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 36(1):125-141.
- Radian S et al. Somatotroph to thyrotroph cell transdifferentiation during experimental hypothyroidism: a light and electron microscopy study. *J Cell Mol Med* 7(3):297-306, 2003.
- Raj K. El reloj epigenético y el envejecimiento. En: Moskalev A, Vaiserman AM, eds. *Epigenética del envejecimiento y la longevidad, de la serie epigenética traslacional vol 4*. 1ª ed. Amsterdam: Prensa académica: 95-118, 2018.
- Redecker P, Fechner J. Immunohistochemical study of cells positive for glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the human pituitary gland, with special reference to folliculo-stellate cells. *Histochemistry* 91(3):227-234, 1989.
- Ryan N, Kovacs K, Ezrin C. Thyrotrophs in old age. An immunocytologic study of human pituitary glands. *Endokrinologie* 73(2):191-198, 1979.
- Sahin E, Depinho RA. Vinculación del deterioro funcional de los telómeros, las mitocondrias y las células madre durante el envejecimiento. *Nature* 464:520-528, 2010.
- Sano T et al. Aging and human pituitary gland. *Mayo Clinic Proc* 68(10):971-977, 1993.
- Sapolsky RM, Krey L, Mc Ewen BS. The adrenocortical axis in aged rat: impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition. *Neurobiol Aging* 7(5):331-335, 1986.
- Sapolsky RM, Krey L, Mc Ewen BS. The adrenocortical stress-response in the aged male rat: impairment of recovery from stress. *Exp Gerontol* 18(1):55-64, 1983.
- Sarkar DK, Fink G. Effects of gonadal steroids on output of luteinizing hormone releasing factor into pituitary stalk blood in female rat. *J Endocrinol* 80(3):303-313, 1975.
- Shaposhnikov VM, Bezrukov VV. Age changes in the ultrastructure and function of rat adrenal glands during stimulation of the hypothalamus. *J Submicrosc Cytol* 17(1):75-81, 1985.
- Simpkins JW et al. Evidence for depressed catecholamine and enhanced serotonin metabolism in aging male rats: possible relation to gonadotropin secretion. *Endocrinology* 100(6):1672-78, 1977.
- Simpkins JW. Changes in hypothalamic hypophysiotropic hormones and neurotransmitters during aging. *Neuroendocrinology of aging*. In: Meites J (ed.) New York. Plenum Press :41-60, 1983.
- Sohal RS, Weindruch R. Estrés oxidativo, restricción calórica y envejecimiento. *Science* 273:59-63, 1996.
- Soji T et al. Folliculo-stellate cells and intercellular communication within the rat anterior pituitary gland. *Microsc Res Tech* 39(2):138-149, 1997.
- Soji T, Herbert DC. Intercellular communication between rat anterior pituitary cells. *Anat Rec* 224(4):523-533, 1989.
- Sonntag W et al. Decreased ability of old male rats to secrete luteinizing hormone (LH) is not due to alterations in pituitary LH-secreting hormone receptors. *Endocrinology* 114(5):1657-64, 1984.
- Steiner RA et al. Reduced pulsatile luteinizing hormone and testosterone secretion with aging in the male rat. *Biol Reprod* 31(2):251-258, 1984.
- Szabolcs I et al. Age-related decreases in the thyrotropin (TSH) responsiveness to thyrotropin-releasing-hormone (TRH) stimulation and the inhibitory effect of triiodothyronine (T3), in vitro study on superfused rat pituitaries. *Exp Gerontol* 26(4):347-355, 1991.
- Ta R, Chang HY. Envejecimiento, rejuvenecimiento y reprogramación epigenética: reiniciar el reloj de envejecimiento. *Cell* 148:46-57, 2012.
- Takahashi K, Yamanaka S. Inducción de células madre pluripotentes de cultivos de fibroblastos adultos y embrionarios de ratón mediante factores definidos. *Cell* 126 : 663-676, 2006.

- Takahashi S, Kawashima S. Age-related changes in prolactin cells in male and female rats of the Wistar/Tw strain. *J Sci Hiroshima University Serie B Div 1* 31:185-191, 1983.
- Tsukada T et al. Folliculostellate cell interacts with pericyte via TGFbeta2 in rat anterior pituitary. *J Endocrinol*, 2016.
- Valueva GV, Verzhikovskaya NV. Thyrotropic activity of hypophysis during aging. *Exp Gerontol* 12(3-4):97-105, 1977.
- van Remmen H, Richardson A. Daño oxidativo a las mitocondrias y envejecimiento. *Exp Gerontol* 36:957-968, 2001.
- Vankelecom H et al. Immunocytochemical evidence that S-100-positive cells of the mouse anterior pituitary contain interleukin-6 immunoreactivity. *J Histochem Cytochem* 41(2):151-156, 1993.
- Vankelecom H et al. Production of Interleukin-6 by folliculo-stellate cells of the anterior pituitary gland. *Ultrastructure of Endocrine Cells and Tissue*. In: PM Motta ed. Boston: Martinus Nijhoff :64, 1989.
- Veldhuis JD. Aging and hormones of the hypothalamo-pituitary axis: gonadotropic axis in men and somatotrophic axes in men and women. *Ageing Res Rev* 7(3):189-208., 2008
- Wahlestedt M et al. Reversión clonal del sesgo de linaje de células madre asociado al envejecimiento a través de un intermedio pluripotente. *Nat Commun* 22:14533, 2017.
- Watanabe T, Hashimoto H. Immunohistochemical studies on S-100 cells in the anterior pituitary gland of Sprague Dawley rats and spontaneous dwarf rats. *Anat Embryol (Berl.)* 188(5):493-500, 1993.
- West CD et al. Adrenocortical function and cortisol metabolism in old age. *J Clin Endocrinol Metab* 21:1197-1207, 1961.
- Wilmot I et al. Descendencia viable derivada de células de mamíferos fetales y adultos. *Nature* 7, 385:810-813, 1997.
- Wise PM et al. Ageing of female reproductive system: a window into brain aging. *Recent Prog Horm Res* 52:279-303, 1997.
- Wise PM. Neuroendocrine ageing: its impact on the reproductive system of female rat. *J Reprod Fert Suppl* 46:35-46, 1993.
- Yamashita M, Qian ZR, Sano T, Horvath E, Kovacs K. Immunohistochemical study on so-called follicular cells and folliculostellate cells in the human adenohypophysis. *Pathol Int* 55(5):244-247, 2005.
- Zegarelli-Schmidt E et al. Endocrine changes associated with the human ageing process: II. Effect of age on the number and size of thyrotropin immunoreactive cells in the human pituitary. *Hum Pathol* 16(3):277-286, 1985.
- Zheng W et al. Anterior pituitary gene expression with reproductive aging in the female rat. *Biol Reprod* 76(6):1091-1102, 2007.

CAPÍTULO 10

IGFI Y ANTIENVEJECIMIENTO

10.1 Antienviejecimiento: transferencia del gen portador del factor insulino-símil tipo I (IGF-I)

El envejecimiento está asociado a un progresivo aumento de la incidencia de enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer, tanto en los animales de laboratorio como en los seres humanos. Sin embargo, debe destacarse que el cerebro adulto conserva su capacidad neurogénica en bulbo olfatorio, giro dentado del hipocampo, numerosas áreas corticales, regiones endimarias ventriculares y *sustancia nigra*.

10.2 Enfermedad de Parkinson (EP)

Trastorno neurodegenerativo crónico con edad de inicio a los 60 años que conduce a una incapacidad progresiva por la pérdida de neuronas secretoras de **dopamina (DA)** en la *sustancia nigra* y en los **ganglios de la base del encéfalo** (fig. 10.1).

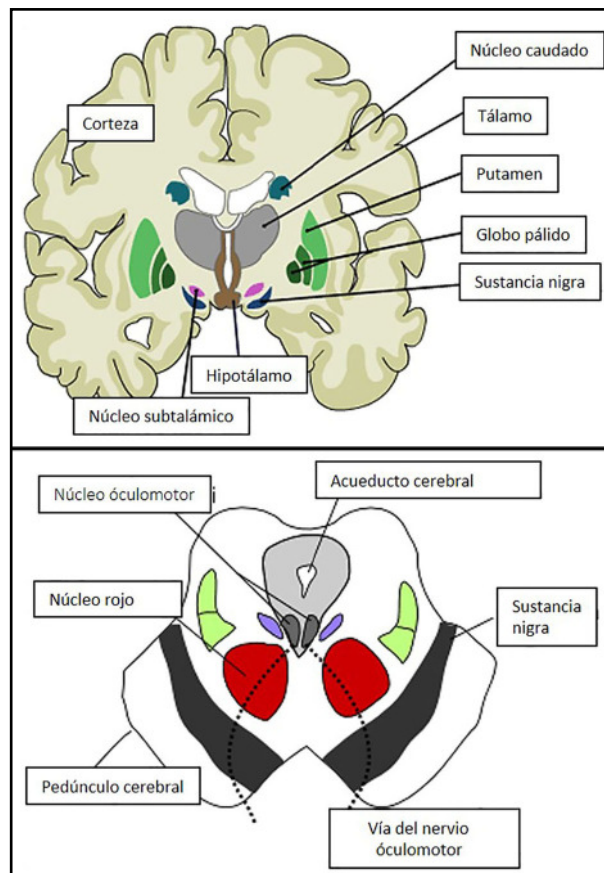


Fig. 10.1 *Sustancia nigra y ganglios de la base* (es.wikipedia.org).

La **DA** es un neurotransmisor responsable de la transmisión sináptica que coordina la actividad de los músculos esqueléticos. La EP desencadena alteraciones en la función cognitiva, en la expresión de las emociones y en la función autónoma. Los pacientes presentan rigidez, temblor de reposo, bradicinesia, pérdida de los reflejos posturales y trastornos del habla. Hay predisposición hereditaria y se producen depósitos de α sinucleína. La EP muestra una degeneración de las neuronas DA nigroestriales, siendo el reflejo más conspicuo de la vulnerabilidad de las neuronas DA ante el avance de la edad. Es de remarcar que los pacientes parkinsonianos generalmente presentan alteraciones funcionales en el eje hipotálamo-lactotrofo (Franceschi y col., 1988).

La EP es tratada con precursores de dopamina y medicación anticolinérgica. Además, se están ensayando terapias génicas y trasplantes de neuronas secretoras de dopamina en la *sustancia nigra*. Una posibilidad terapéutica de creciente interés clínico en el tratamiento de procesos neurodegenerativos es el empleo de los factores neurotróficos que prevengan la degeneración y restauren la función de la población dopaminérgica remanente con repercusión a nivel pituitario. La **fig. 10.2** señala una neurona de la *sustancia nigra* con neuromelanina y un cuerpo de Lewy (estructura proteica anormal).

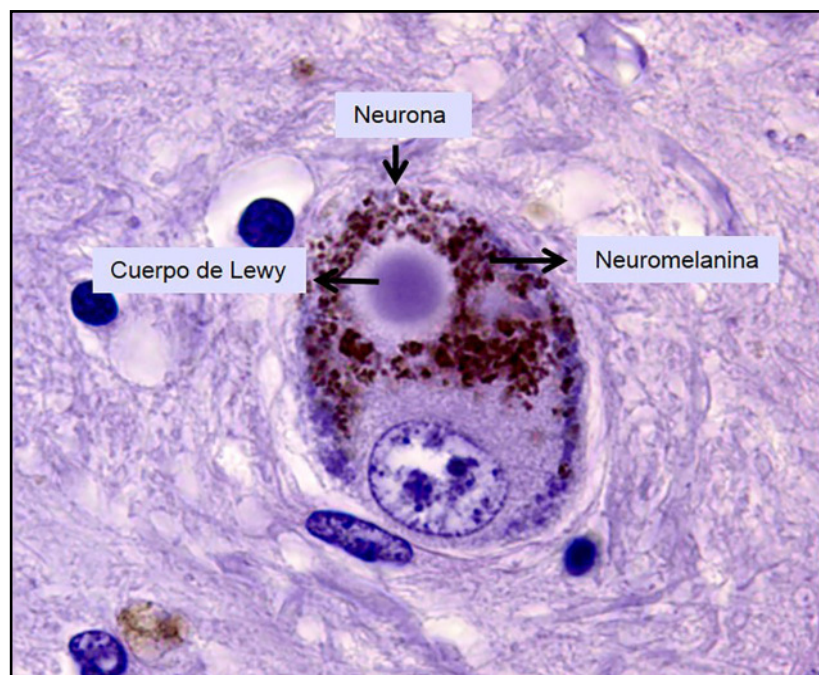


Fig. 10.2 Neurona de la sustancia nigra. Neuromelanina y cuerpo de Lewy (drosophila.es).

En la **fig. 10.3** se ven los núcleos hipotalámicos y la glándula pituitaria.

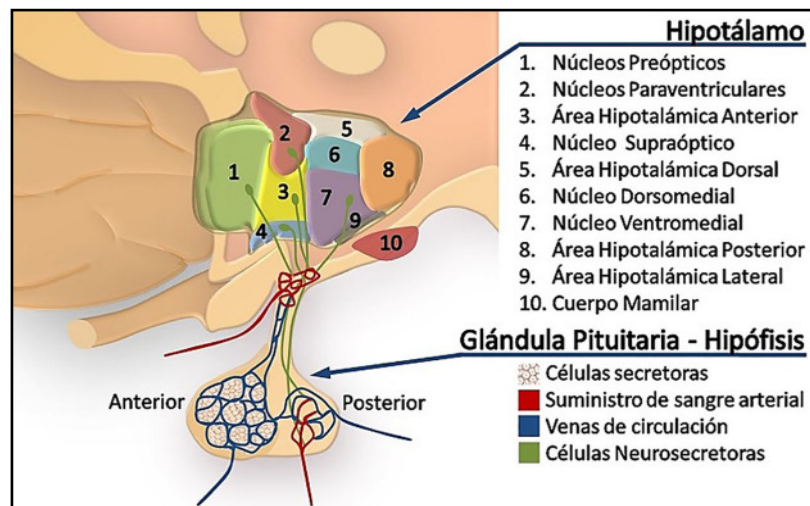


Fig. 10.3 Núcleos hipotalámicos y glándula pituitaria (asociacioneducar.com).

10.3 Enfermedad de Alzheimer

Alteración neurodegenerativa de evolución lenta que se manifiesta como deterioro cognitivo y trastornos conductuales. Se caracteriza por una pérdida progresiva de la memoria, incapacidad para incorporar nuevos datos, alteraciones del lenguaje y falta de orientación con dificultad para encontrar recorridos habituales, a medida que se produce pérdida neuronal. Es la forma más común de demencia. Es incurable, terminal y aparece con mayor frecuencia en personas de más de 65 años de edad. Las investigaciones la asocian con la aparición de **placas seniles** formadas por depósitos de **A β amiloide** entre las neuronas del hipocampo (área CA1) que determinan la pérdida de la memoria episódica y espacial. El tratamiento farmacológico busca aumentar la acetilcolina cerebral por lo que se suministran anticolinesterásicos para inhibir la colinesterasa que descompone la acetilcolina.

El hipocampo se relaciona con la corteza cerebral ubicada en el interior del lóbulo temporal. Se le considera una invaginación de la arcuocorteza, producida por la formación de la fisura del hipocampo que lo empuja haciendo prominencia en el piso del cuerno inferior. Mide aproximadamente 3,5 a 4 cm. de longitud anteroposterior. Al observar un corte coronal del cuerno inferior, se puede ver que se parece al “caballito de mar”, y de ahí el nombre de “hipocampo”, pero en otro contexto histórico se le comparó con un cuerno de la antigua deidad egipcia Amón Ra. Es de color amarillo claro, debido a que está cubierto por una capa de sustancia blanca que se llama **alveo** (del latín *alveus*), que corresponde a fibras mielinizadas o axones de las células piramidales del hipocampo. En un corte transversal se ve cómo el alveo se continúa con la **fimbria**. La fimbria es un paquete de fibras piramidales del hipocampo que se continúa con los pilares del **fórnix** (fig. 10.4).

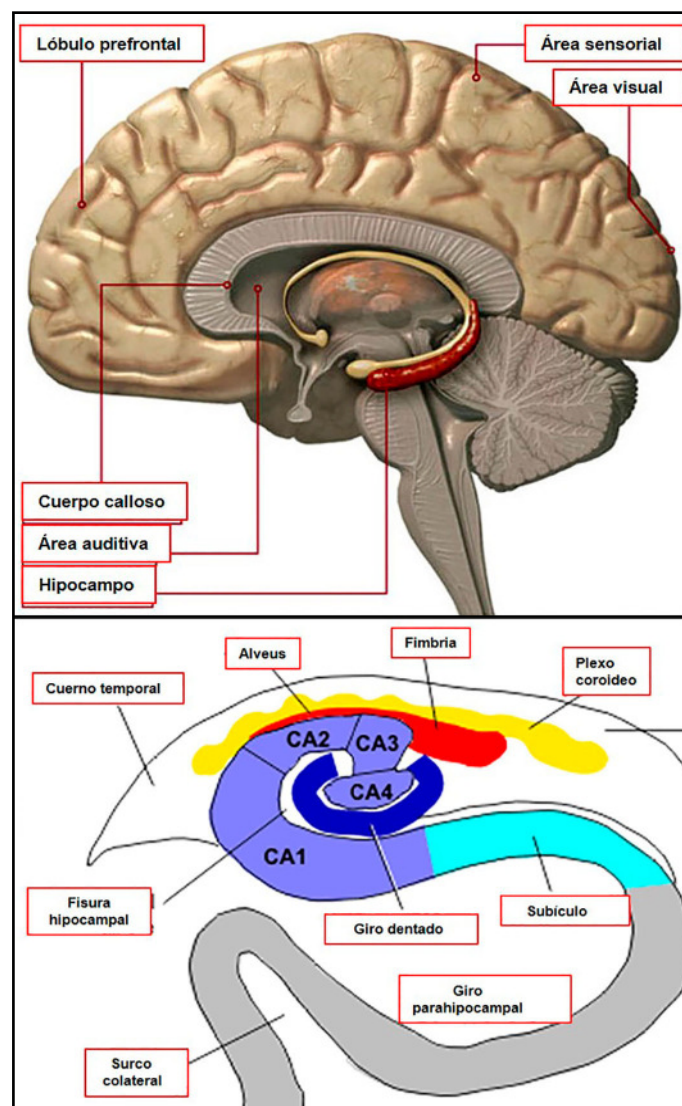


Fig. 10.4 Hipocampo. Áreas CA1-CA2 y CA3. Alveo, giro dentado, fimbria (blogs.spot.com).

En la **fig. 10.5** se muestran las neuronas del hipocampo.

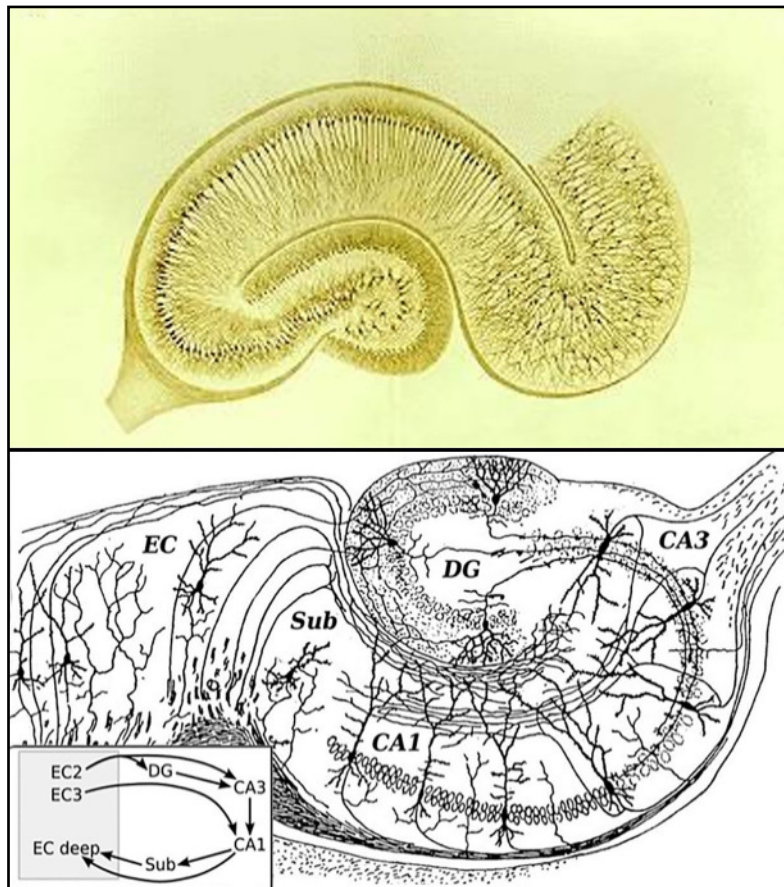


Fig. 10.5 Neuronas del hipocampo. Áreas CA1-CA2 y CA3. Giro dentado (DG). (Dibujo de Santiago Ramón y Cajal).

En la **fig. 10.6** se observa la histología de las neuronas piramidales del hipocampo que tiene 3 estratos: polimorfo, piramidal y molecular. Las neuronas piramidales emiten las arborizaciones dendríticas que van al giro dentado y las colaterales de Schaffer.

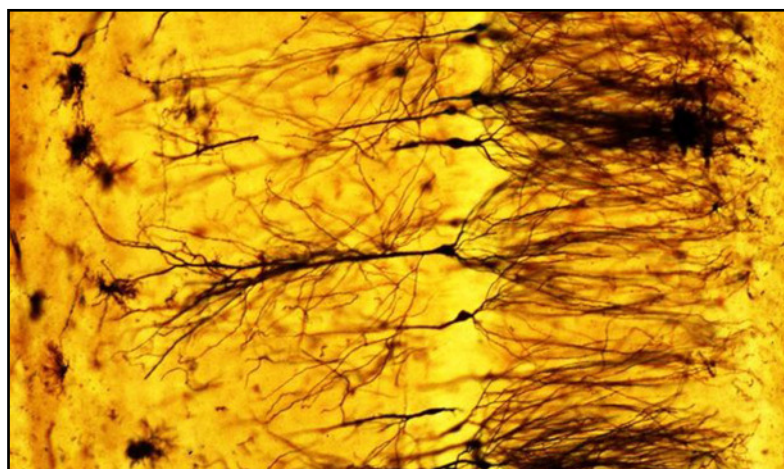


Fig. 10.6 Neuronas piramidales del hipocampo con sus arborizaciones dendríticas y colaterales de Schaffer (agenciasinc.es).

10.4 Tratamiento de los trastornos neurodegenerativos con IGF-I

Una posibilidad terapéutica de creciente interés clínico es el tratamiento de los procesos neurodegenerativos mediante el empleo de los **factores neurotróficos** para provocar la restauración neuronal. Un factor trófico utilizado para el rescate neuronal en los procesos neurodegenerativos es el *factor de crecimiento insulino-símil tipo I (IGF-I)*. En la rata, los niveles tisulares del IGF-I y de su receptor disminuyeron significativamente en el hipocampo y en las capas corticales II/III y V/VI durante el envejecimiento (Sonntag y col., 1999). Cuando se produjo un daño citotóxico del hipocampo, la microglía de esta región aumentó la producción de IGF-I y de IGF-I-proteína de unión 2 (IGF-IBP2), respuesta que sugiere un rol neuroprotector de estas moléculas en el sistema nervioso central (SNC) (Breese y col., 1996). Además, se ha observado que el IGF-I protege a las neuronas del hipocampo de los efectos tóxicos de los péptidos amiloides (Doré y col., 1997) y que el tratamiento con IGF-I en ratones que sobreexpresan un mutante del péptido A β amiloide reduce su carga cerebral y mejora la eficiencia cognitiva (Carro y col., 2002 y 2006). En estudios *in vitro* se ha demostrado que el IGF-I incrementó la supervivencia celular de los cultivos primarios de las neuronas hipotalámicas (Torres-Aleman y col., 1990) y estimuló la diferenciación de las neuronas mesencefálicas dopaminérgicas de la rata (Knusel y col., 1990). Además, Sortino y Canónico (1996) comunicaron el efecto neuroprotector del IGF-I en las células hipotalámicas inmortalizadas.

También en la glándula pituitaria se producen varios factores de crecimiento (Webster y col., 1989; Halper y col., 1992) que pueden afectar la función y proliferación de sus células a través de acciones autocrinas o paracrinas (Houben y Denef, 1994) y uno de ellos, el IGF-I, se detectó en los lóbulos anterior e intermedio de la pituitaria (D'Ercole y col., 1984). El IGF-I actúa en la embriogénesis del sistema nervioso y en el crecimiento de las neuronas, siendo promisoría su aplicación en el tratamiento de los tumores pituitarios.

En la **fig. 10.7** se muestran las moléculas de los **IGF tipos I y II**. La molécula de IGF-I abarca 90kb de ADN genómico y consiste en 6 hexones que pueden ser empalmados para crear variantes de transcripción. El péptido maduro de IGF-I contiene 70 aminoácidos y 4 dominios. El dominio B está implicado con el receptor de IGF-I (Daughaday y Rotwein, 1989).

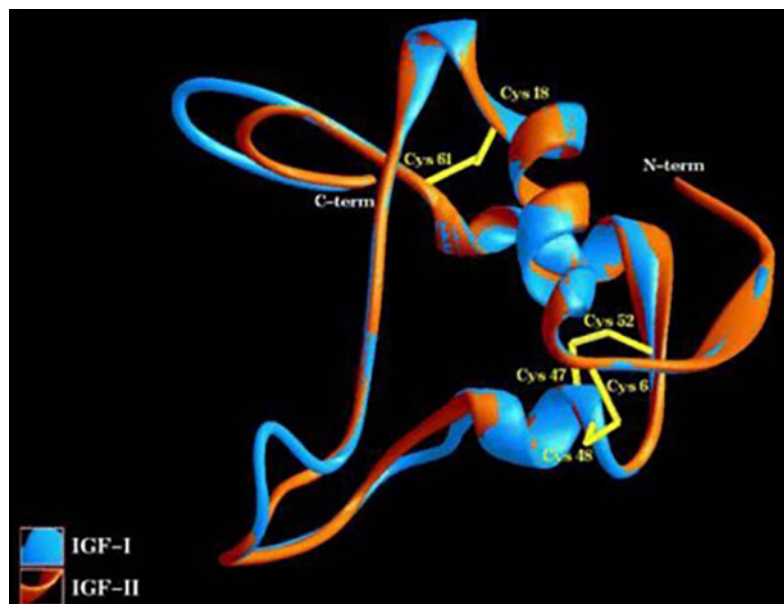


Fig. 10.7 Factores de crecimiento insulino-símiles tipos I y II (IGF-I y -II).

El eje GH-IGF-I se debilita con la edad, dependiendo de la integridad del eje hipotálamo-pituitario-hepático. El uso de GH recombinante humana en pacientes ancianos no hipopituitarios mostró un incremento en el riesgo de neoplasias, por lo que se requiere un estudio a largo plazo (Sherlock y Toogood, 2007). El tratamiento con IGF-I extendería la longevidad en un modelo de envejecimiento prematuro

humano o **progeria**, mediante la restauración del eje somatotropo, pudiendo ser de interés terapéutico en síndromes con alteraciones de la envoltura nuclear (Mariño y col., 2010). Los niveles séricos de GH-IGF-I disminuyeron de modo significativo en la **somatopausia**, llevando al uso de GH humana recombinante. Sin embargo, varias mutaciones que disminuyeron el tono de dicho eje estuvieron asociadas con una mayor longevidad en ratones. Además, los humanos y ratones con menor actividad del eje GH-IGF-I estarían protegidos de cáncer y diabetes mellitus (Junnila y col., 2013). Díaz-Torga y col. (2002) detectaron que la interrupción del receptor D2 de dopamina (DA) alteró la secreción de IGF-I-GH y causó enanismo en los ratones machos.

Existe una expresión diferencial de los transcritos de ARNm de IGF-I en respuesta a los esteroides, a la GH y a las señales del desarrollo. Oberbauer (2013) presentó una minuciosa regulación de la transcripción génica del IGF-I y su empalme durante el desarrollo y el envejecimiento. Los niveles séricos de IGF-I bioactivo disminuyeron con la edad en adultos sanos (Vestergaard y col., 2013).

La inactivación del *receptor de IGF-I (R-IGF-I)* en heterocigotas extendió la vida útil de ratones hembras intactos y mutantes de cepa C57BL/6J, pero hubo menor efecto en la cepa 129/SvPas, lo que se sugiere una penetrancia específica de los fenotipos en la longevidad (Xu y col., 2014). Walter y col. (1997) observaron que el IGF-I actuaría de manera paracrina-autocrina en las heridas cerebrales de la rata regulando las respuestas celulares, con disponibilidad espacial y temporal. En adición, la injuria criogénica en la médula espinal indujo expresión astrocítica del gen de la IGF-I-BP que estaría implicado en la regeneración de la mielina (Yao y col., 1995).

10.4.1 Vectores adenovirales portadores de IGF-1

Los vectores derivados de los *adenovirus portadores de IGF-1* han sido usados con fines de investigación básica y en aplicaciones terapéuticas a nivel del sistema neuroendocrino. Los adenovirus no tienen membrana y presentan un genoma de 36 Kb que posee capacidad para infectar una amplia variedad de células en reposo o en mitosis. Los receptores celulares para adenovirus son los denominados receptores de alta afinidad **CAR** (Coxsackie-Receptor de Adenovirus) que se adhieren a la proteína viral (Bergelson y col., 1997) y a las integrinas $\alpha_v\beta_{3/5}$ que interactúan con la base pentamérica viral (Hidaka y col., 1999). La **fig. 10.8** muestra la estructura de un adenovirus.

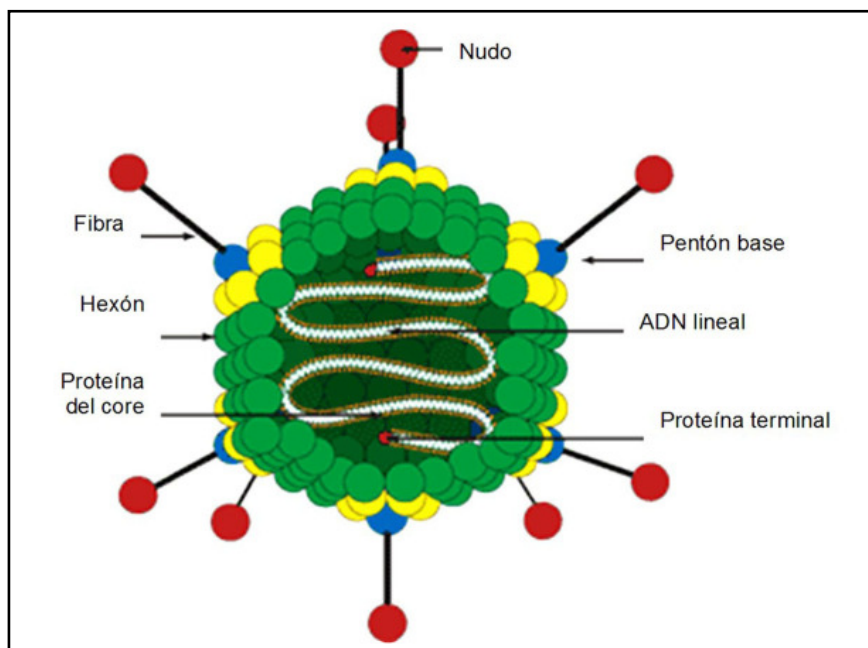


Fig. 10.8 Estructura del adenovirus.

En el **cuadro 10.1** se describen las características del vector adenoviral con supresiones, tamaño máximo del transgén y su expresión a corto/largo plazo.

Cuadro 10.1 Supresiones, tamaño máximo del transgén y expresión.

Vector adenoviral	Supresiones	Tamaño máximo del transgén	Expresión
Primera generación	E1/E3	8,2 Kb	Fuerte a corto plazo
Segunda generación	E1/E2/E3/E4	12 Kb	Fuerte a corto plazo
Tercera generación	Todos los genes excepto ITRs/ Ψ	36 Kb	A largo plazo y en células en reposo

Los genes adenovirales han sido clasificados como genes tempranos que codifican proteínas reguladoras expresadas antes de la replicación del ADN y genes tardíos expresados después de la replicación de ADN, codificando proteínas estructurales. La región genómica temprana E1 es delecionada en los vectores adenovirales para tomarlos en replicación-defectivos. Esta región genómica E1 debe ser complementada *in trans* (en un ADN separado) para replicar el vector que es provisto por medio de una línea celular como la HEK 293, transfectada con los genes virales delecionados (Hitt y col., 1998). La primera generación de vectores adenovirales recombinantes adolece de las regiones genómicas E1 y E3, delecionándose la última para hacer más espacio en las secuencias exógenas. La expresión de la proteína viral estimula una fuerte respuesta inmune, caracterizada por linfocitos T citotóxicos que eliminan las células infectadas (Yang y col., 1994). Para superar esta limitación, otras regiones genómicas son delecionadas en nuevos vectores adenovirales.

Los adenovectores denominados “Helpers-Dependientes” (**HDAd**) son los más prometedores y en ellos, los genes adenovirales son delecionados y conservan sólo las terminales repetidas invertidas (TRI). Dichas terminales son necesarias para la replicación del ADN viral y para la señal de encapsulación. Como el vector no puede expresar ninguna proteína viral, la generación de los vectores HD requiere que todos los genes adenovirales sean provistos *in trans*, usualmente mediante coinfección con un adenovirus, denominado “virus colaborador” (Park y col., 1996). Este virus, usado para generar los HDAd, permanece como un contaminante. Varios sistemas han sido diseñados para minimizar los títulos de virus colaboradores en las reservas de virus HDAd (Parks y Gram, 1997). La limitación crítica de los vectores adenovirales proviene de una fuerte respuesta inmune contra las partículas virales y las células infectadas. Esto limita la expresión a largo plazo de los transgenes porque los linfocitos T citotóxicos producen citólisis y previenen la readministración del vector. Las estrategias para vencer las respuestas inmunes no deseadas incluyen el uso de los vectores adenovirales transportando genes inmunosupresores (Ideguchi y col., 2000), así como drogas inmunosupresoras (ciclosporina) (Geddes y col., 1996) y recursos de tolerancia oral (Ilan y col., 1997).

Estudios iniciales con los vectores derivados de los adenovirus y herpes virus demostraron que los dos sistemas pueden ser usados eficientemente para transferir diferentes tipos de genes a las células en cultivos primarios, como las líneas tumorales corticotropa AtT₂₀ y mamosomatotropa GH₃ de la pituitaria anterior normal de rata (Castro y col., 1997; Goya y col., 1998).

Es de remarcar que las células neoplásicas hipofisarias son más susceptibles a la transducción mediada por vectores respecto a las células normales. La inyección estereotáxica de los vectores adenovirales transportando el gen de la *E. coli* β -galactosidasa (β -gal) bajo el control de promotores de la PRL humana (**PRLh**) o del virus del citomegalovirus humano (**CMVh**) lleva a altos niveles de la expresión del transgén.

El éxito de la terapia génica requiere, en el caso de los vectores virales, un vector capaz de transducir eficientemente las células blanco *in vivo* y de producir una expresión elevada y prolongada en el tiempo del transgén, con una toxicidad mínima. Los vectores adenovirales de primera generación no cumplen con todas estas expectativas porque la eliminación del gen E1 no es suficiente para evitar la total activación de los demás genes virales. Esto genera *in vivo* una respuesta inmune sobre las células transducidas que reduce la duración de la expresión del transgén. Este problema es resuelto con los adenovectores HD en los que se les ha removido todas las secuencias virales del adenovirus, excepto los elementos *in cis* esenciales para la replicación y encapsidación del genoma. Estos vectores *in vivo* generan menor toxicidad y mayor duración de expresión del transgén con respecto a los adenovirus de primera gene-

ración. Luego ser endocitados, los virus se liberan desde el compartimiento endosomal hasta el citosol y se depositan sobre el complejo del poro nuclear donde el ADN viral con algunas proteínas asociadas son translocados hacia el núcleo. Allí, el genoma viral permanece en un estado no integrado (episomal). En la **fig. 10.9** se presenta el ciclo de infección del adenovirus y del vector adenoviral recombinante.

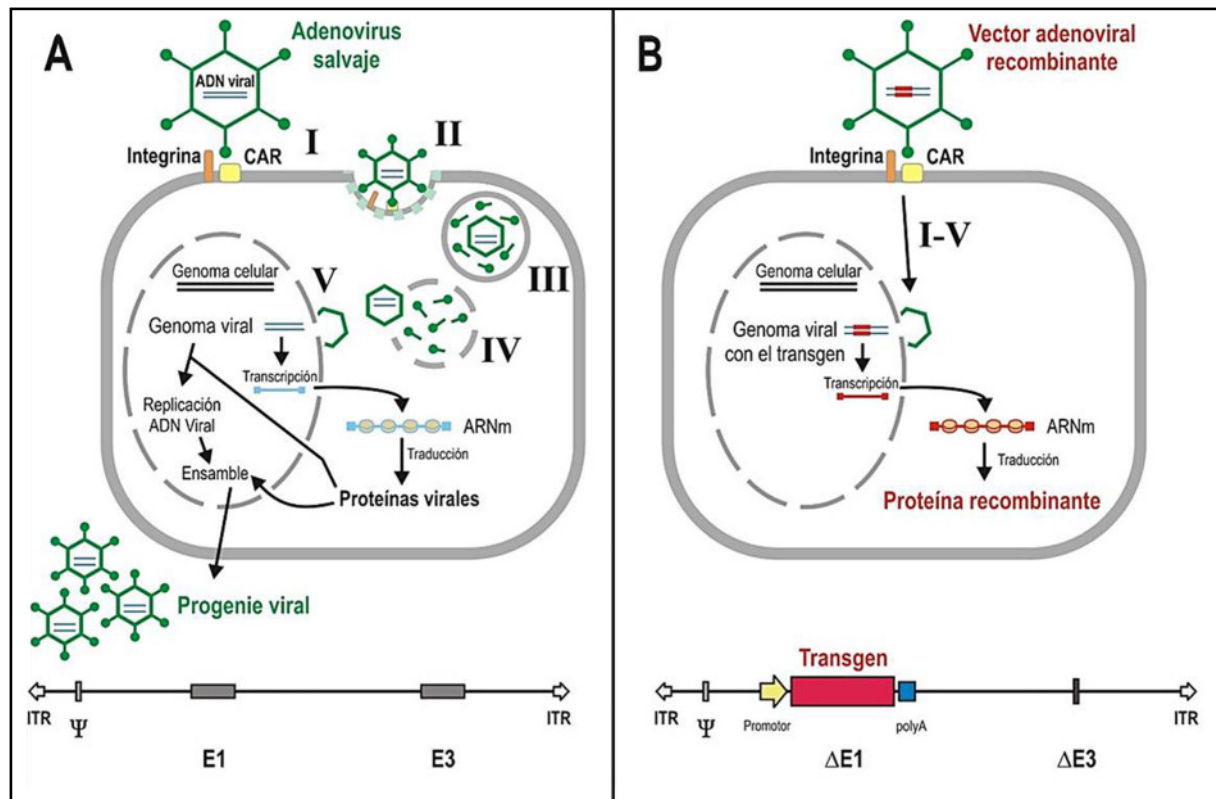


Fig. 10.9 Ciclo de infección: adenovirus (Ad) y vector adenoviral recombinante (RAD).

A) Adenovirus salvaje: se une a receptores de la membrana celular y es endocitado. El ADN viral es transferido al núcleo donde forma un **episoma**. Luego de la replicación viral del ADN, se expresan genes virales que codifican para proteínas estructurales que van al núcleo donde generan **cápsides** virales. Las partículas maduras se liberan por citólisis.

B) Vector adenoviral recombinante: entra en las células blanco y transfiere su ADN al núcleo. El genoma del vector carece de región genómica E1 y la replicación del ADN viral no sucede. El transgén se expresa *produciendo* niveles altos de proteína transgénica. No se generan nuevas partículas virales y no hay citólisis (Bolognani y Goya, 2001).

Se construyeron los vectores de primera generación **RAAd-IGF-I** y **RAAd- β gal** para la terapia génica a corto plazo (17 días) y los vectores adenovirales de tercera generación portadores de los transgenes **IGF-I** y **DsRed2** (proteína fluorescente roja) denominados: **HDAd-IGF-I** y **HDAd-DsRed2**, respectivamente. A diferencia de los vectores de primera generación, éstos permitieron una expresión mucho más prolongada de sus transgenes (4 meses) (Hereñú y col., 2007).

En la **fig. 10.10** se muestra la construcción de un adenovector recombinante para IGF-I.

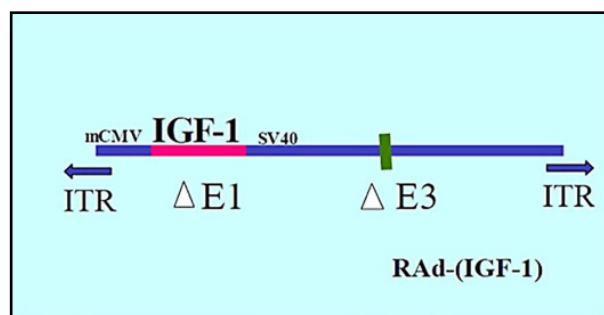


Fig. 10.10 Construcción de un adenovector recombinante para IGF-I. (Hereñú y col., 2007).

La **fig. 10.11** presenta la construcción de los adenovectores de tercera generación.

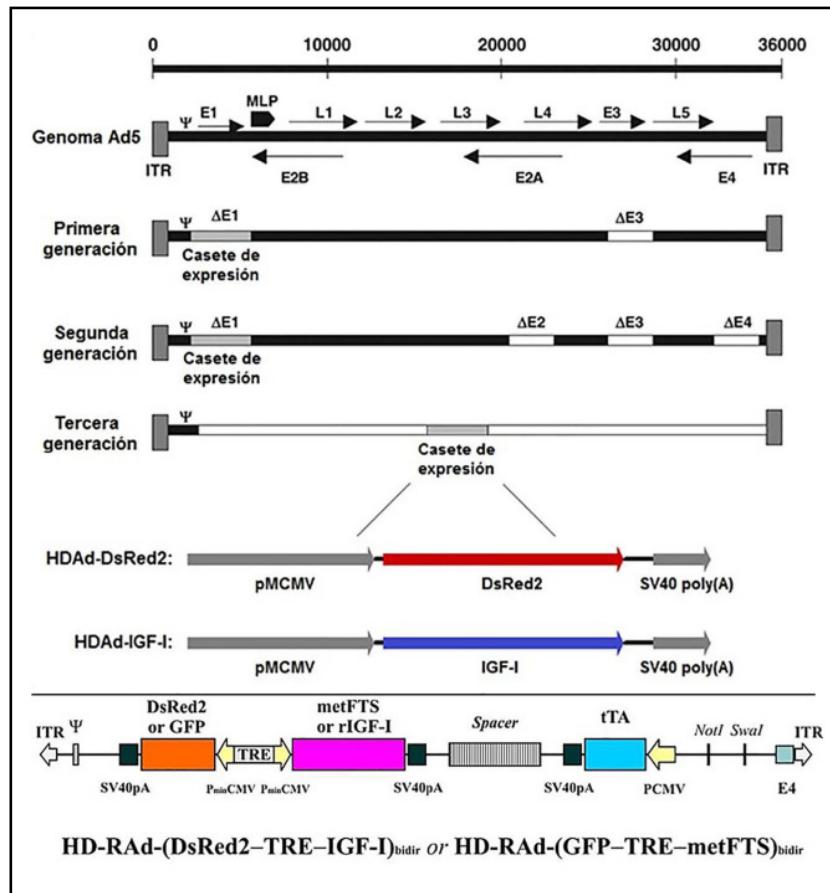


Fig. 10.11 Adenovectores de tercera generación (Schwerdt y col., 2013).

Fig. 10.12: mapas de los plásmidos utilizados para construir los adenovectores.

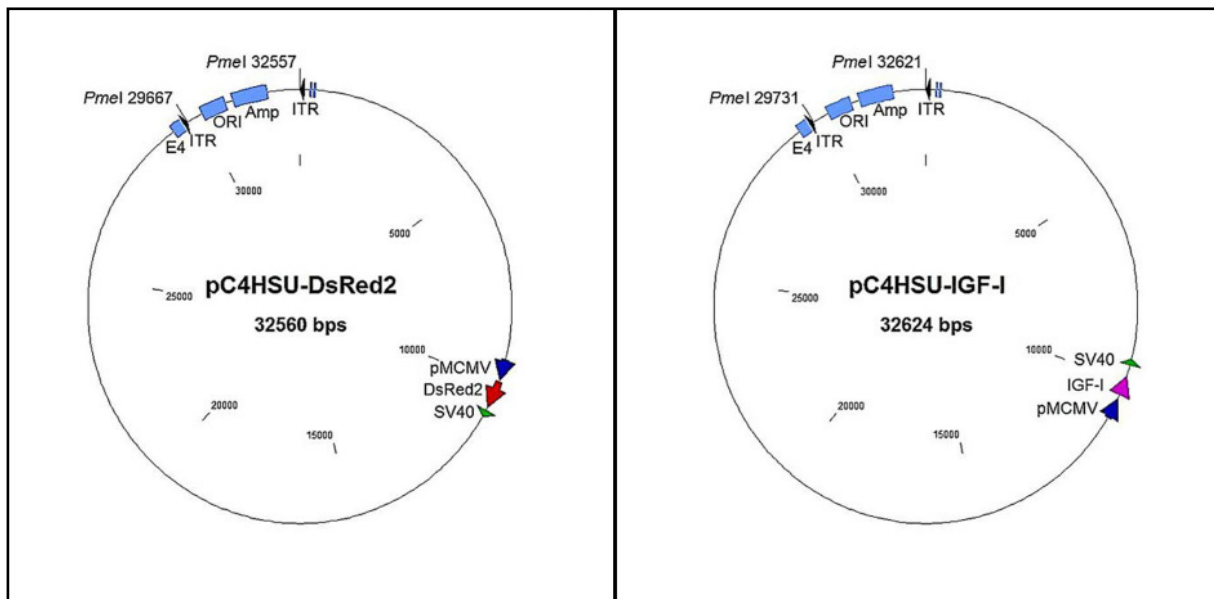


Fig. 10.12 Mapas de los plásmidos pC4HSU-IGF-I y pC4HSU-DsRed2 utilizados para generar el HDAd-IGF-I y el HDAd-DsRed2, respectivamente.

PCMV: promotor del citomegalovirus murino; DsRed2: gen de la proteína fluorescente en rojo; IGF-I: factor de crecimiento insulino similar tipo I; SV40: señal de poliadenilación; Amp: gen de resistencia a ampicilina; ORI: origen de replicación; ITR: repetición terminal invertida; Ψ: señal de encapsidación; E4: secuencia no codificante de la región E4 del Ad5 (Schwerdt y col., 2013).

Se implementó terapia génica neuroprotectora con IGF-I en ratas hembras jóvenes y viejas, las cuales fueron inyectadas en el hipotálamo mediobasal con $8,45 \times 10^9$ PV de **HDAd-IGF-I** o **HDAd-DsRed2** (vector control) y se adicionó un grupo intacto para ambas edades. Estos **HDAd**'s fueron estudiados *in vitro* e *in vivo* con el fin de determinar si pueden ser utilizados para terapia génica de largo plazo (4 meses). Dichos adenovectores fueron aplicados por Hitt y col. (1998) en las líneas celulares A549 (adenocarcinoma alveolar humano), B92 (glial de rata) y N2a (neuroblastoma de ratón).

El estudio a corto plazo (17 días) se hizo con adenovectores **RAd-βgal** (vector control) y **RAd-IGF-I** de primera generación, utilizando ratas jóvenes, viejas y seniles inyectadas con ambos adenovectores. Los niveles de PRL sérica fueron medidos para monitorear las neuronas TIDA.

Los vectores fueron inyectados mediante estereotaxia hipotalámica en el núcleo arcuato (Paxinos y Watson, 1998) (**fig. 10.13 A-B**).

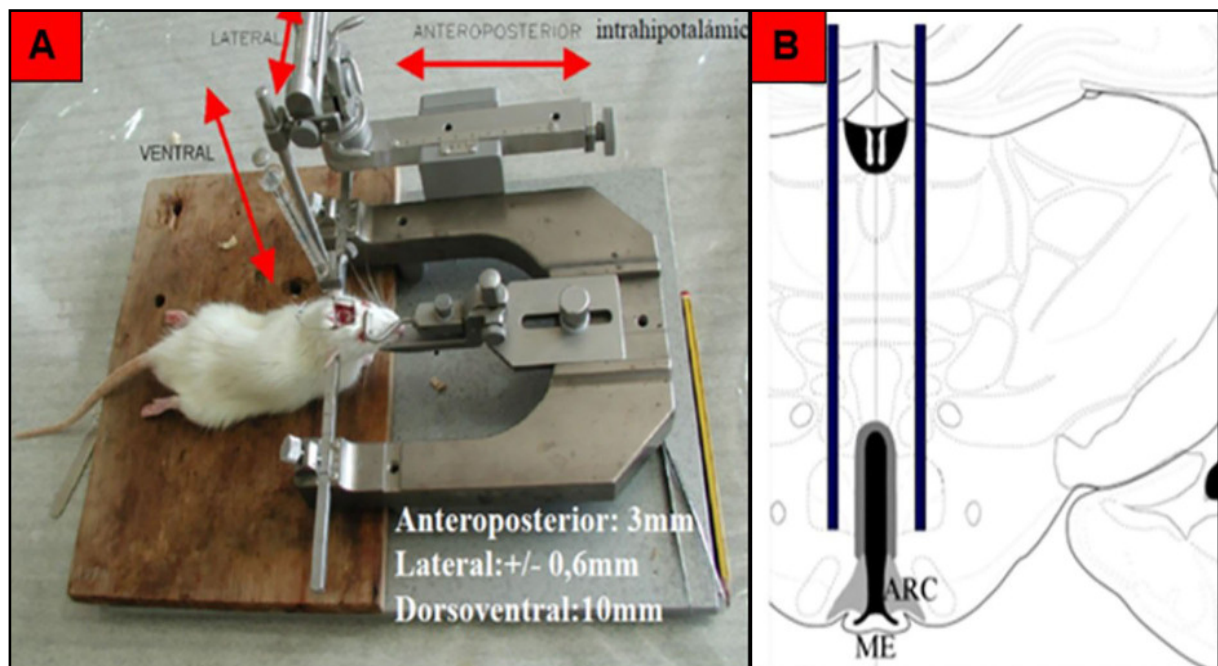


Fig. 10.13 A-B. Estereotaxia hipotalámica en núcleo arcuato.

A. Aparato de estereotaxia. **B.** Representación esquemática de una sección coronal de la región hipotalámica tuberal a nivel de la eminencia media (ME) mostrando el área de distribución de las neuronas dopaminérgicas en el núcleo arcuato (ARC) (gris) y la zona periventricular. Cánula bilateral insertada. En negro: tercer ventrículo (3V).

Las neuronas dopaminérgicas (**DA**) del hipotálamo de rata están agrupadas en las áreas A12 y A14 (Dahlström y Fuxe, 1964; Tillet y Kitahama, 1998).

Kawano y Daikoku (1997) localizaron el área A12 y sus correspondientes axones terminales que constituyen el sistema **TIDA** y el área A14 en el núcleo arcuato (**ARC**) y región periarcuato que proyecta sus axones a la eminencia media donde la DA es liberada en los vasos porta para actuar sobre la adenohipófisis.

10.4.2 Neuronas hipotalámicas TIDA de ratas envejecidas con terapia a corto plazo

Fig. 10.14: se muestra la expresión de **Rad-βgal** en el hipotálamo de ratas jóvenes y seniles después de 17 días de la inyección.

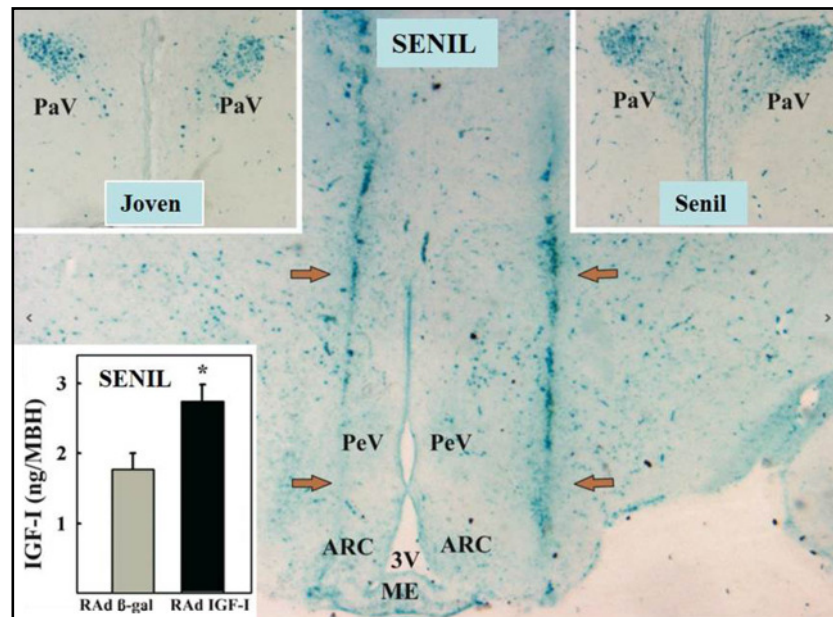


Fig. 10.14 Expresión de RAD-βgal. Hipotálamo de ratas jóvenes y seniles después de 17 días de la inyección de RAD-βgal (Hereñú y col., 2007).

Fig. 10.15: aumento del número de las neuronas del hipotálamo periventricular y arcuato en seniles respecto a jóvenes al inyectar el gen portador de IGF-I.

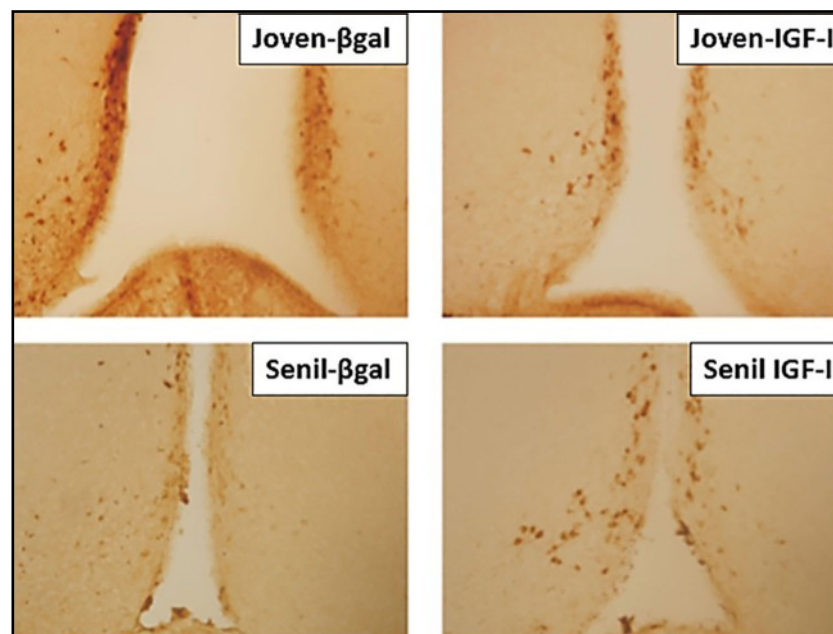


Fig. 10.15 Neuronas hipotalámicas TIDA de ratas jóvenes y seniles sometidas a terapia génica de corto plazo con IGF-I (Hereñú y col., 2007).

Los resultados mostraron un incremento (* $p < 0.05$) de las neuronas DA hipotalámicas de arcuato-periventricular (Arc-Pev) y paraventricular (Pav) en ratas seniles respecto a jóvenes sometidas a te-

rapia génica de corto plazo (17 días), así como un marcado incremento (**p < 0.01) de las neuronas DA totales (fig. 10.16) (Hereñú y col., 2007).

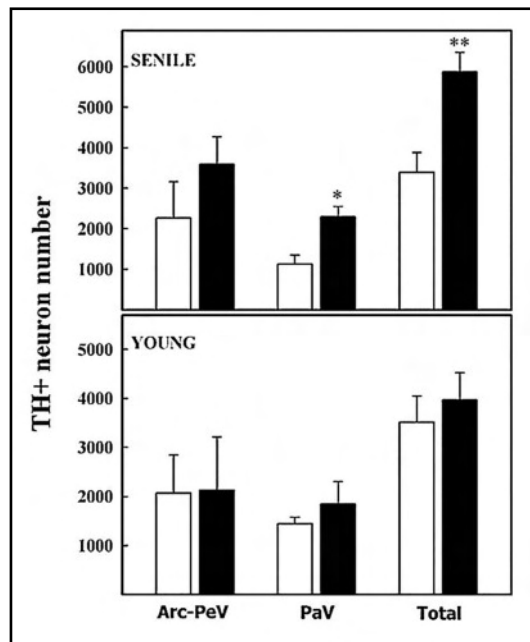


Fig. 10.16 Morfometría de las neuronas TIDA sometidas a la terapia génica a corto plazo con Rad-IGF-I/Rad-βgal en ratas jóvenes y seniles (Hereñú y col., 2007).

Se demostró que la terapia génica de corto plazo (17 días) para Rad-IGF-I en el sistema TIDA hipotalámico de ratas hembras de seniles fue altamente efectiva para corregir la hiperprolactinemia crónica (**p < 0.01) (fig. 10.17).

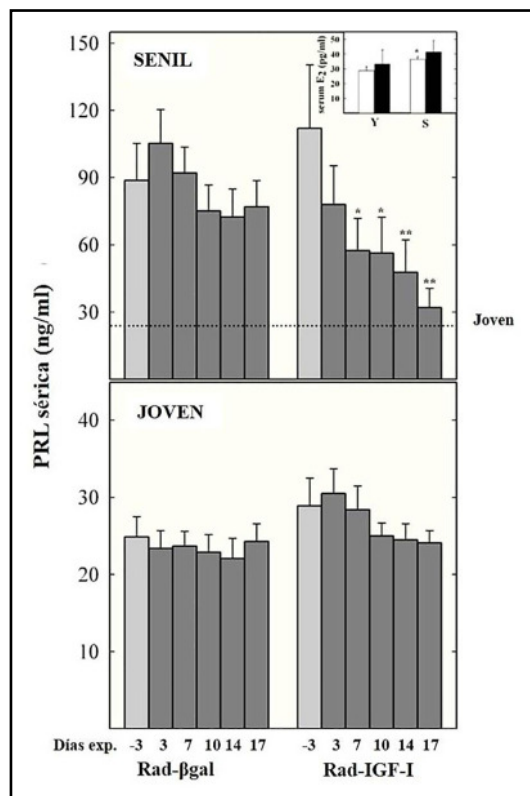


Fig. 10.17 Valores séricos de PRL en ratas jóvenes y seniles sometidas a terapia génica de corto plazo (17 días) (**p < 0.01) (Hereñú y col., 2007).

10.4.3 Neuronas hipotálamicas TIDA de ratas envejecidas con terapia a largo plazo

El estudio del envejecimiento del eje hipotálamo-hipofisario a largo plazo (4 meses) se hizo con los adenovectores **HDAd-Red2** (vector control) y **HDAd-IGF-I**. Se asignaron grupos con ratas jóvenes y viejas divididas en intactas que fueron inyectadas con dichos vectores. En la **fig. 10.18** se observa la expresión de **HDAd-DsRed2** en el hipotálamo mediobasal (HMB).

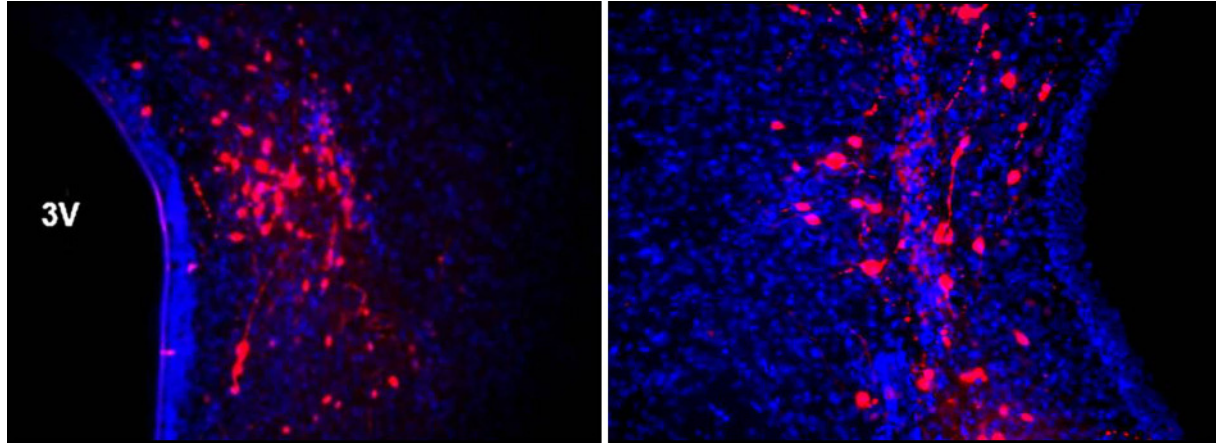


Fig. 10.18 Expresión de DsRed2 (fluorescencia roja) en el HMB del vector HDAd-DsRed2. Azul: núcleos marcados con DAPI; 3V: tercer ventrículo (IF, x 200) (Schwerdt y col., 2013).

Se detectó un nivel estable de dichas neuronas TIDA en las ratas viejas inyectadas respecto a sus contrapartes jóvenes. En los grupos intactos las ratas viejas mostraron un descenso ($p < 0.05$) de las neuronas del sistema TIDA (**fig. 10.19**).

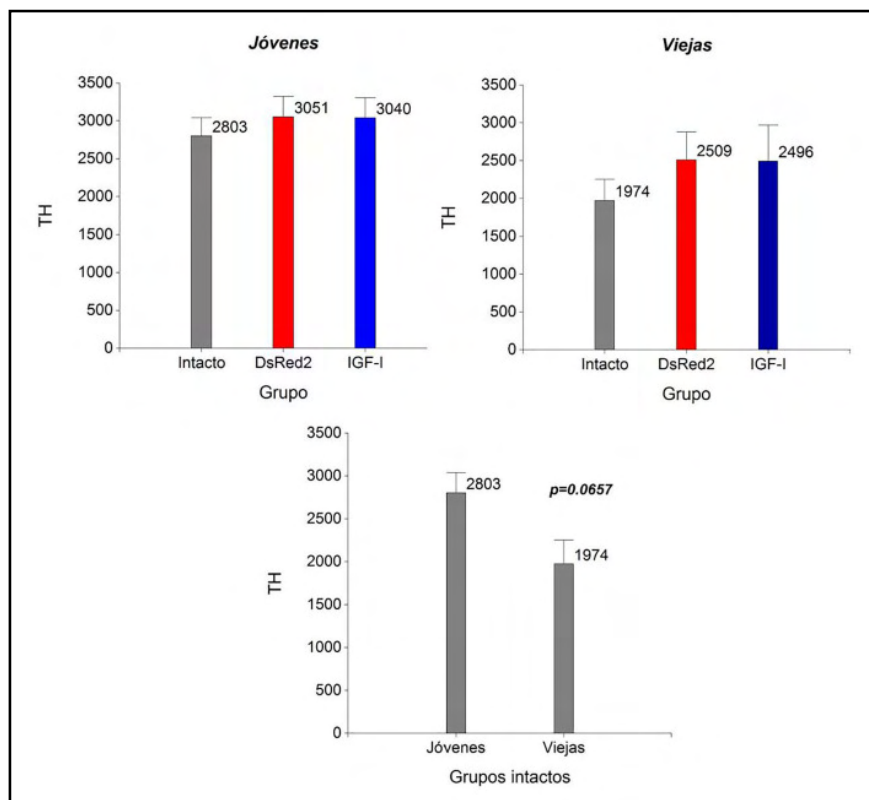


Fig. 10.19 Morfometría de las neuronas TIDA sometidas a la terapia génica a largo plazo con **HADd-IGF-I/HADd-DsRed** en ratas jóvenes y viejas de los diferentes grupos experimentales (Schwerdt y col., 2013).

En la **fig. 10.20** se observa la intensidad de fluorescencia específica en los lisados celulares A549, B92 y N2a, a las 48 hs post-infección. Se ven altos niveles de fluorescencia específica de **HDAd-IGF-I** en B92 y de **HDAd-DsRed2** en A549.

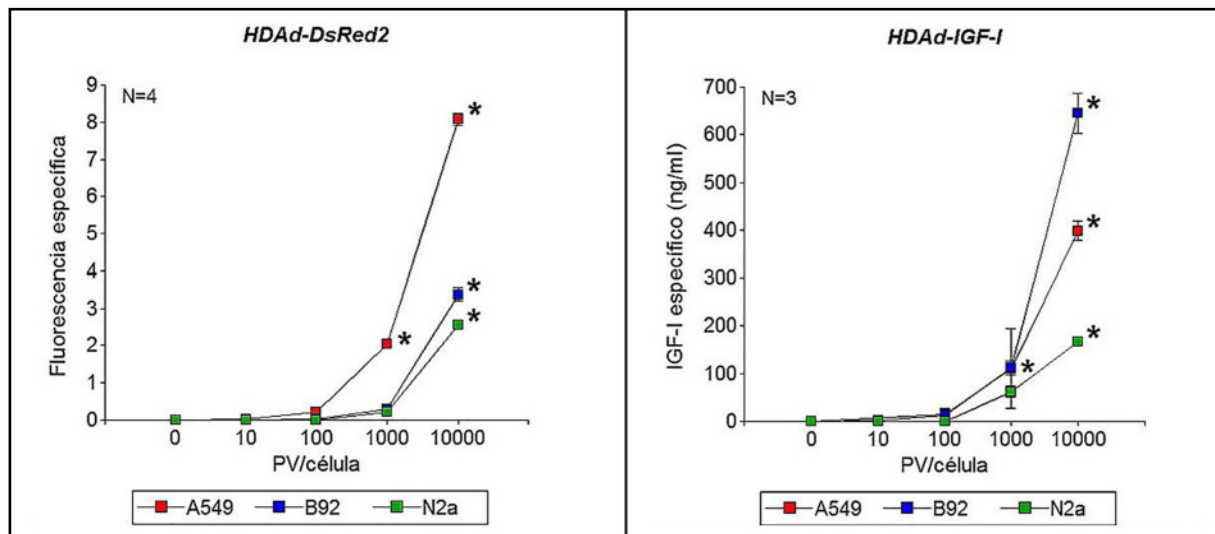


Fig. 10.20 Intensidad de fluorescencia específica en lisados celulares A549, B92 y N2a a las 48 hs post-infección. Distintas MOI (PV/célula) de HDAd-DsRed2 y HDAd-IGF-I

Se evaluó la expresión del **IGF-I** (pg/mg) en los homogenatos del hipotálamo mediobasal (HMB), a las 48 hs post-inyección en los grupos: ratas intactas no inyectadas con el vector y ratas inyectadas con **HDAd-DsRed2** (vector control) y con **HDAd-IGF-I**. Hubo sobreexpresión de IGF-I en el HMB ($p < 0.05$) (**fig. 10.21**).

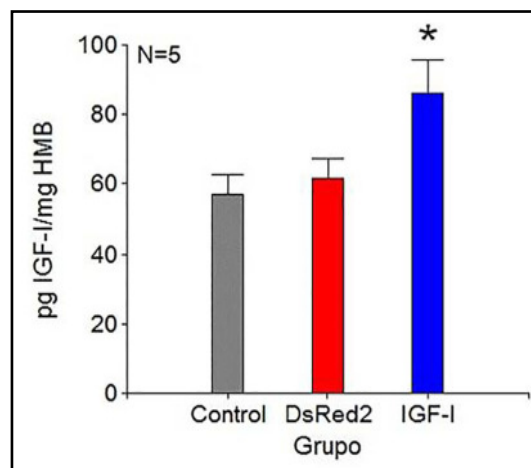


Fig. 10.21 Sobreexpresión de IGF-I en los homogenatos de HMB a los 48 hs post-inyección del HDAd-IGF-I (Schwerdt y col., 2013).

Grupo control: ratas intactas no inyectadas. **Grupo DsRed2:** ratas inyectadas con el vector control HDAd-DsRed2 y grupo IGF-I: ratas inyectadas con HDAd-IGF-I ($p < 0.05$)

Cuadro 10.2: Morfometría lactotropa con terapia a largo plazo en ratas viejas.

Jóvenes	Intactas	HDAd-Red2	HDAd-IGF-I
DV	92.9 ± 4.0	84.7 ± 5.1	83.5 ± 1.2
DC	292.5 ± 32.1	285.8 ± 20.1	305.2 ± 25.2
TC	35.5 ± 2.1	26.2 ± 0.5*	27.6 ± 2.1*
N° células/1000 μm ²	30.3 ± 2.3	27.2 ± 0.4	31.0 ± 3.1
Viejas			
DV	47.6 ± 3.1	22.3 ± 2.3*	11.3 ± 1.0**
DC	227.0 ± 12.2	101.5 ± 8.2**	98.6 ± 4.2**
TC	21.7 ± 2.1	31.6 ± 4.2*	31.0 ± 4.3*
N° células/1000 μm ²	47.7 ± 2.1	36.7 ± 6.1	26.5 ± 4.1**

Los datos son expresados ± ES. Los asteriscos representan el nivel de significancia respecto a ratas intactas: *p < 0.05; **p < 0.01. Grupos: intactas, inyectadas con HDAd-Red2 y HDAd-IGF-I, jóvenes y viejas.

En las ratas jóvenes no hay grandes cambios en la densidad de volumen (DV), en la densidad de células (DC), en el N° de células /1000 mm², observándose un descenso (p < 0.05) del tamaño celular (TC) en los grupos inyectados respecto al grupo intacto. En las ratas viejas se detecta un descenso significativo (p < 0.01) de DV, DC, N° de células /1000 mm² y un incremento del tamaño celular (p < 0.05) compensatorio en los grupos inyectados respecto a ratas intactas. Es de remarcar, que hubo áreas cromóforas que tendrían isoformas de PRL que no se pudieron cuantificar.

En la terapia génica a largo plazo (4 meses) con el vector **HDAd-IGF-I** descendieron (*p < 0.05) los valores séricos de PRL tanto en ratas jóvenes como en viejas inyectadas respecto a las ratas intactas (**fig. 10.22**).

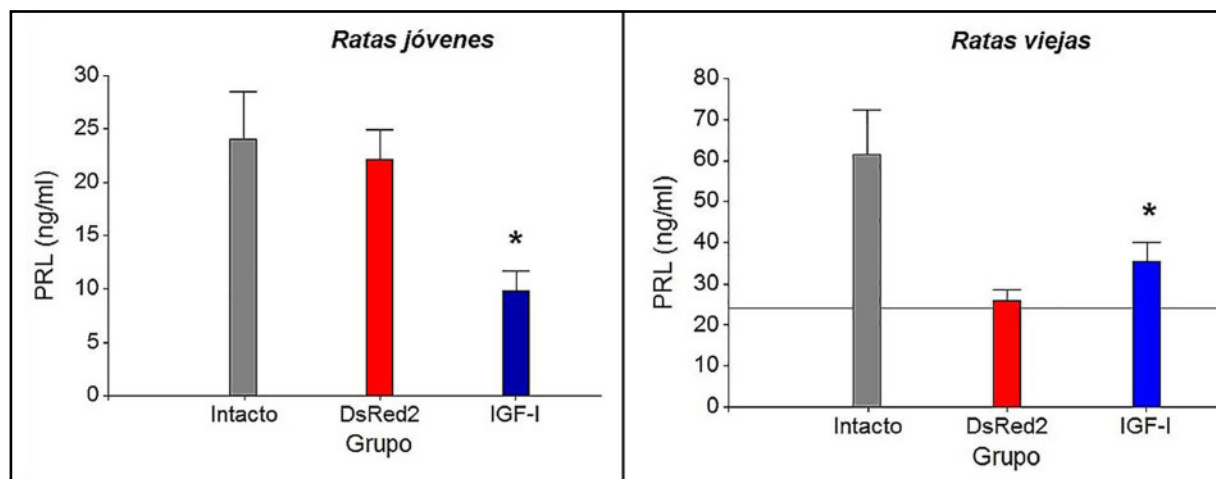


Fig. 10.22 Valores séricos de PRL en ratas jóvenes y viejas sometidas a terapia génica a largo plazo. (*p < 0.05). La línea de corte corresponde a los valores normales en ratas jóvenes (Schwerdt y col., 2013).

La **fig. 10.23** muestra la cinética de la PRL (ng/ml) de ratas jóvenes en los días pre/post-inyección de los vectores.

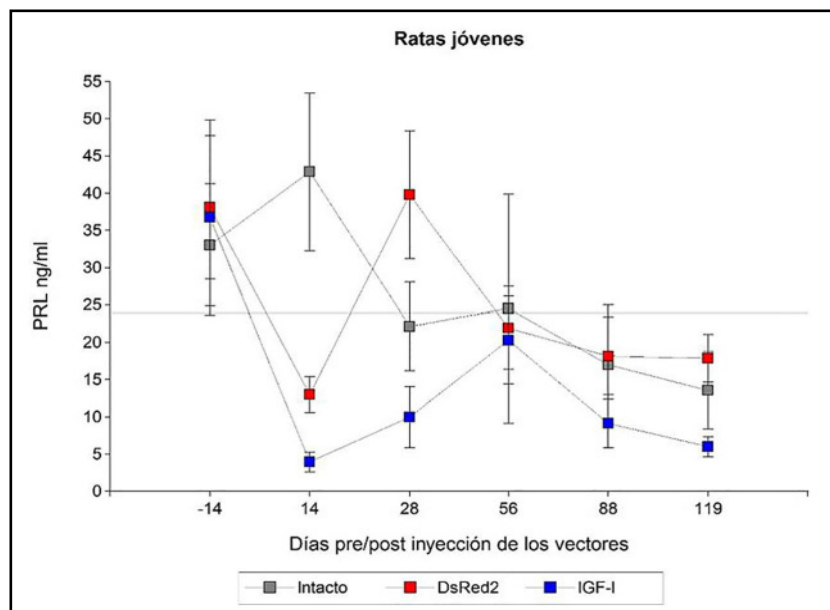


Fig. 10.23 Cinética de la PRL (ng/ml) de ratas jóvenes en los días pre/post-inyección de los vectores (Schwerdt y col., 2013).

Fig. 12.24: envejecimiento del hipocampo: se hizo con vectores HDAd-Red2 y HDAd-IGF-I. Se asignaron grupos de ratas jóvenes y viejas. Se observó fluorescencia roja en las células endimarias de ventrículos laterales, tercer ventrículo y acueducto de Silvio. (**fig. 12.24**).

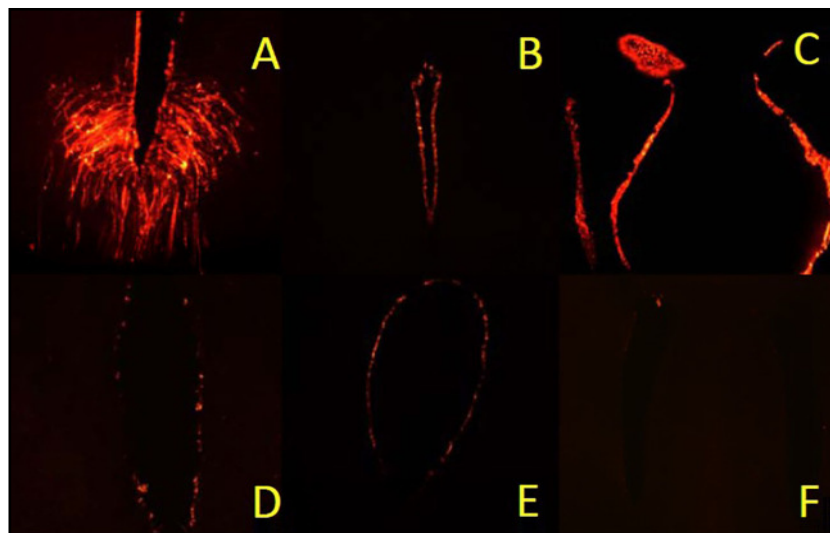


Fig. 10.24 Expresión del RAD-DsRed. Microfotografías de las células endimarias con emisión de fluorescencia roja (Pardo y col., 2013).

A, B, C: rata sacrificada 2 días después de la inyección icv del adenovector. **D, E, F:** rata sacrificada 18 días después de la inyección icv del adenovector. **A y D:** 3er ventrículo, x 100 y x 200, respectivamente. **B y C:** acueducto de Silvio, x 100 y x 200, respectivamente. **C y F:** ventrículos laterales (x 400).

Una de las regiones más afectadas por el envejecimiento es el hipocampo que juega un rol clave en el control de las funciones cognitivas. Estas alteraciones desencadenan enfermedades neurodegenerativas que afectan la salud mental y conducen a la pérdida progresiva de la memoria.

La **fig. 10.25** muestra la inmunomarcación de los grupos **IGF-I** y **DsRed** para *doble cortina*, *GFAP* y *vimentina*.

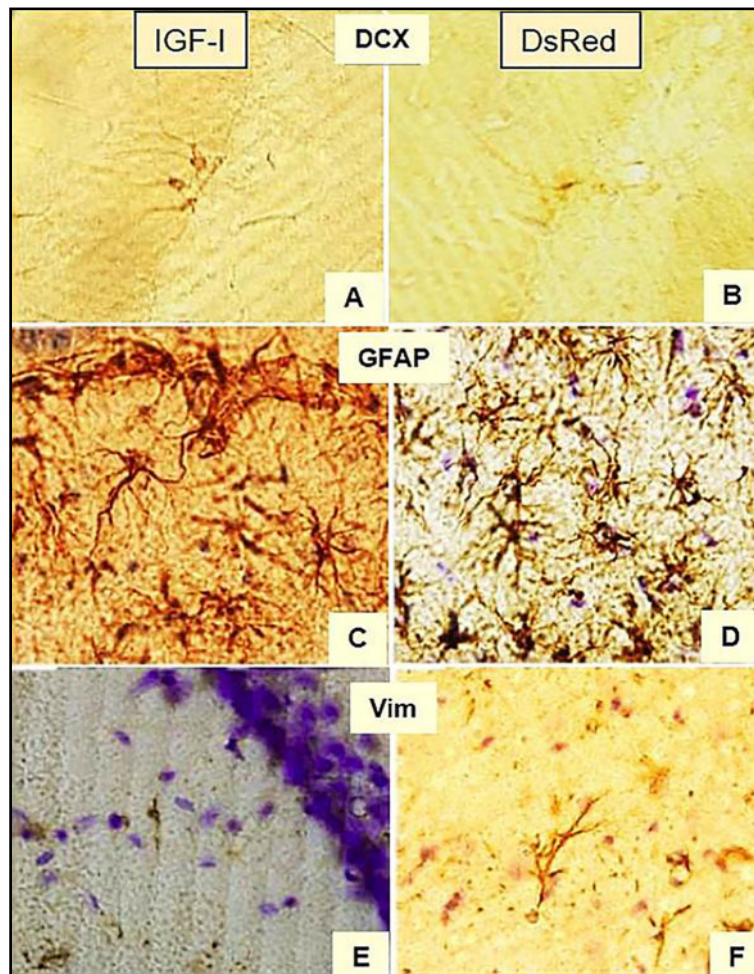


Fig. 10.25 Inmunomarcación de las neuronas del giro dentado (GD) y del *stratum radiatum* (SR) (Pardo y col., 2013).

A y B: Doble cortina en GD. **C y D:** GFAP en SR. **E y F:** Vimentina en SR. **A, C, E:** Grupo T. **B, D, F:** Grupo C. (x 200).

Los estudios morfométricos realizados detectaron un aumento ($*p < 0.05$) de las neuronas doble cortina positivas en el giro dentado respecto al control. En el *stratum radiatum* (SR) no se observaron diferencias significativas en el recuento de células vimentina +. Por el contrario, el recuento de células GFAP positivas fue mayor en el SR del grupo C, respecto al T (Pardo y col., 2013). (**fig. 10.26**).

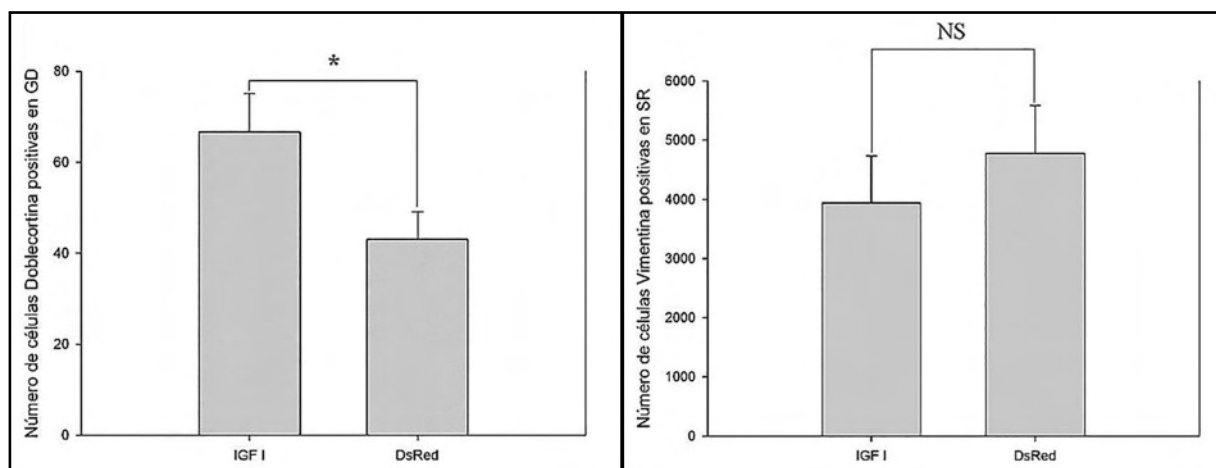


Fig. 10.26 Morfometría de células doble cortina y vimentina en IGF-I y DsRed. (Pardo y col., 2013).

El *test cognitivo* muestra que ambos grupos T y C reducen su latencia de escape en el desafío 4, después de lo cual se mantienen constantes. En los ensayos sin caja el grupo T cometió en promedio la misma cantidad de errores primarios antes y después del tratamiento. Sin embargo, en el grupo C se observó una tendencia ($p=0.092$) a cometer más errores primarios en el desafío sin caja post-tratamiento. Se observó que el grupo T explora más la región meta en el desafío sin caja después de la cirugía respecto al grupo C. Los valores de los gráficos representan la media \pm ES (figs. 10.27 A-B-C) (Pardo y col., 2016).

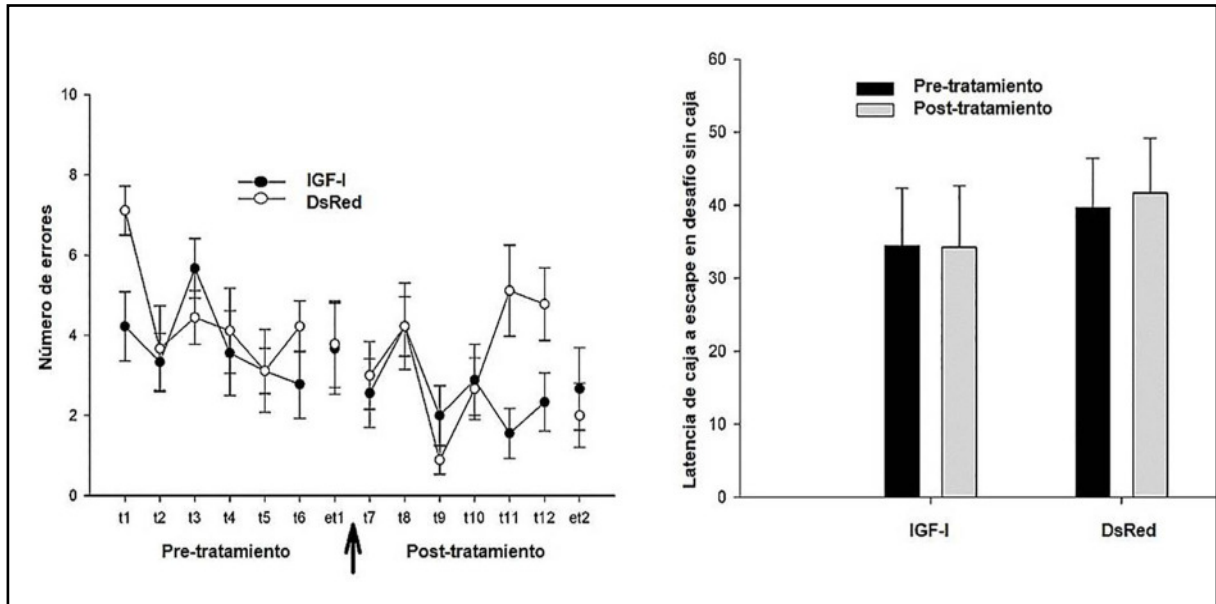


Fig. 10.27 A. Número de errores pre/post-tratamiento y latencia de caja a escape en desafío sin caja (Pardo y col., 2013; 2016).

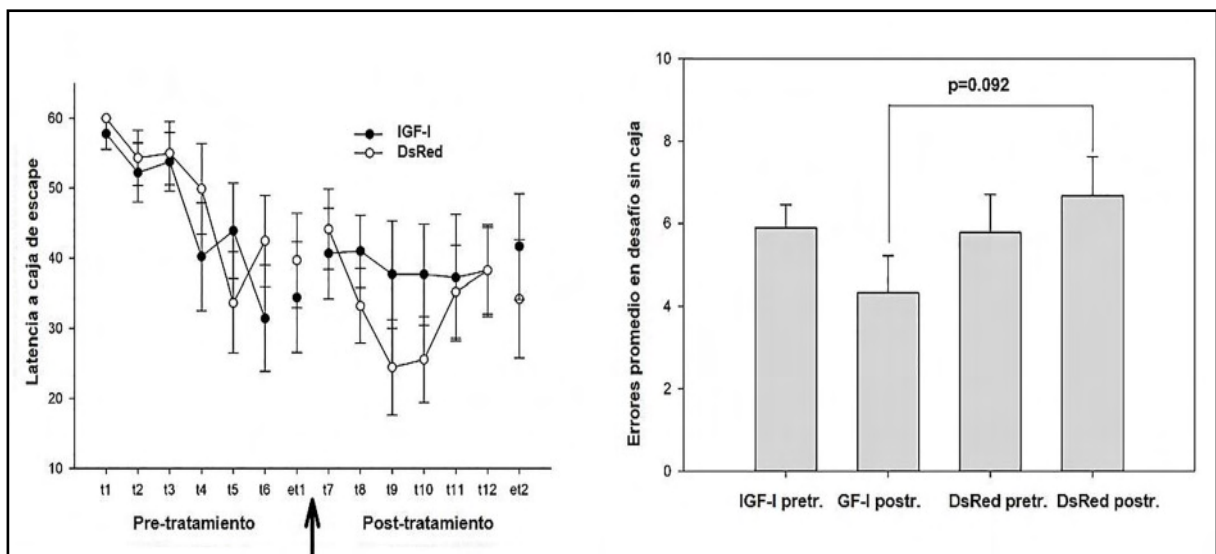


Fig. 10.27 B. Latencia de caja a escape y errores promedio en desafío sin caja (Pardo y col., 2013; 2016).

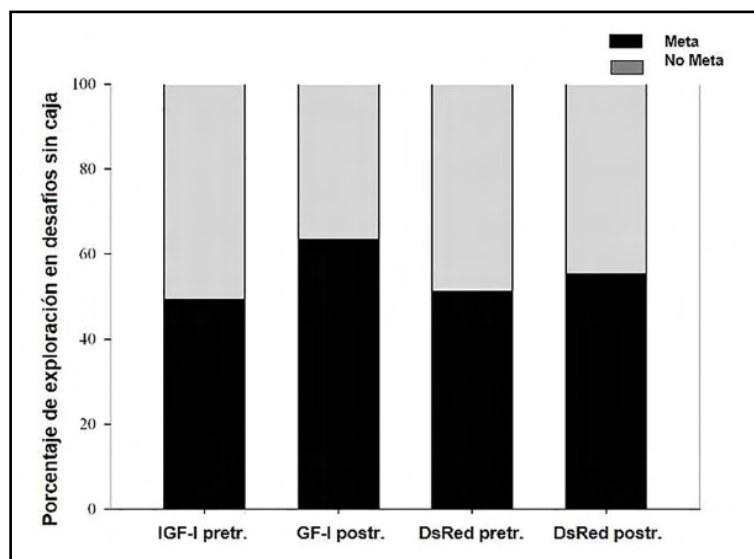


Fig. 10.27 C. Porcentaje de exploración en desafíos sin caja.
(Pardo y col., 2013; 2016).

El envejecimiento determina en la rata hembra una pérdida de las neuronas hipotalámicas del sistema TIDA que ejercen un control inhibitorio tónico sobre la secreción de PRL y la proliferación de la población lactotropa adenohipofisaria (Sarkar y col., 1982). Dicha pérdida neuronal estuvo asociada a una progresiva hiperprolactinemia (Goya y col., 1990; Hereñú y col., 2007) y al desarrollo de prolactinomas hipofisarios en las ratas hembras (Cónsole y col., 1997).

En este contexto, la rata hembra envejecida emerge como un modelo único de pérdida y/o disfunción espontánea de neuronas DA centrales, debiendo destacarse que no se trata de un modelo basado en la lesión farmacológica. Se ha detectado en ratas hembras seniles una significativa degeneración de sus neuronas dopaminérgicas (DA) centrales (Porter y col., 1994). La función de las neuronas TIDA declinó durante el envejecimiento, con marcada reducción del contenido de la DA en el hipotálamo, eminencia media y *pars neural* de ratas envejecidas (28 meses) respecto a ratas jóvenes (4 meses) (Porter y col., 1980). El porcentaje de secreción de DA en la sangre del tallo pituitario declinó en ratas machos y hembras envejecidas, comparando con el grupo joven (Reymond y Porter, 1981; Gudelsky y col., 1981).

La transferencia génica constituye una herramienta para tratar enfermedades neurodegenerativas a través del uso de ácidos nucleicos y nuestro modelo aporta la utilización de adenovectores de primera generación en la terapia de corto plazo (17 días) y de tercera generación capaces de actuar a largo plazo (4 meses). Las neuronas A14 están localizadas en los núcleos hipotalámicos para-periventricular (HPV) y periventricular (HPeV) con unas pocas neuronas dispersas en el área hipotalámica ventromedial (AHVM). El 50% de las neuronas DA que terminan en la *pars intermedia* de la pituitaria de la rata se proyectan a través del núcleo periventricular y regulan la secreción de hormona melanoestimulante α (MSH α) (Goudreau y col., 1992; Kawano y Daikoku, 1997). El área A14 y sus fibras son conocidas como el sistema dopaminérgico periventricular. Ambos sistemas regulan la secreción de PRL ejerciendo un control inhibitorio tónico sobre la secreción de PRL y la proliferación lactotropa (Ben-Jonathan y col., 1989). Sánchez y col. (2003) midieron las áreas A12 y A14 durante la senescencia en A12 hallaron en ratas viejas y seniles un nivel estacionado del número de neuronas DA respecto a jóvenes, con marcado aumento del área neuronal que justifica el aumento de la PRL sérica. Nuestro RAd- β gal mostró una amplia distribución en las células transducidas del HMB que sugiere que el IGF-I transgénico también enriquece las regiones PaV y ARC-PeV. La marcada reversión de la hiperprolactinemia crónica lograda con IGF-I en ratas seniles sugiere que su sobreexpresión en el hipotálamo de ratas envejecidas restaura la función y el número de las neuronas DA. El modelo experimental con IGF-I en ratas viejas mantuvo el nivel de las neuronas hipotalámicas y mostró en las ratas seniles un aumento ($p < 0.01$) del número de neuronas DA con incremento del área neuronal ($p < 0.05$) respecto a animales jóvenes. Ello determinó un mayor

control inhibitorio hipotalámico que resultó en un descenso ($p < 0.01$) del número de lactotropas, menor incidencia de microprolactinomas y control de la hiperprolactinemia ($p < 0.01$). Dichos resultados ratifican la eficacia de nuestra terapia génica con IGF-I para revertir los parámetros propios de la senescencia (Hereñú y col., 2007). Un buen número de modelos *in vivo* han sido desarrollados para el estudio de la fisiopatología de la enfermedad de Parkinson (EP), así como para el ensayo de estrategias terapéuticas para esta devastadora enfermedad (Korell y Tanner, 2004). Se han usado neurotoxinas para lesionar las neuronas DA en primates y roedores, y para generar modelos transgénicos que sobreexpresen α -sinucleína (Shimohama y col., 2003). Aunque cada uno de estos paradigmas han provisto información útil en la comprensión de la EP, tienen una limitación común ya que las lesiones neurológicas fueron causadas por una manipulación experimental más que por el envejecimiento fisiológico. Sánchez y col. (2008) detectaron una pérdida del 30-40% de las neuronas DA nigrales, mostrando un severo deterioro de la eficiencia motora y cognitiva. Pérez-Martín y col. (2010) documentaron neurogénesis en el hipotálamo y en las regiones periventriculares de las ratas adultas, después de un tratamiento con IGF-I vía icv. La terapia génica icv de corto plazo con IGF-I en ratas seniles indujo una moderada pero significativa mejora de la eficiencia motora en ratas (Nishida y col., 2011). Aberg y col. (2000) demostraron en el hipocampo de ratas adultas una neurogénesis selectiva con proliferación de las células progenitoras. Trejo y col. (2001) hallaron incremento del IGF-I circulante luego del ejercicio con aumento de nuevas neuronas en el hipocampo. Además, se ha documentado que hay neuronas progenitoras en la capa ependimaria del tercer ventrículo de la rata adulta que pueden migrar y diferenciarse como neuronas hipotalámicas (Xu y col., 2005). Liu y col. (2012) detectaron que el β -amiloide indujo la expresión del receptor de IGF-I y sugirieron un mecanismo de desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

Se estudió la prevalencia de la EP en diferentes grupos etáreos, hallando valores que van del 0.2% a 4.8% (85 a 94 años) (de Rijk y col., 1995) y en números absolutos, se comunicó una tasa de prevalencia promedio de 13 por 100.000 personas por año (Mayeux y col., 1995). El IGF-I presentó un efecto neuroprotector contra la neurotoxicidad inducida por DA en cultivos neuronales humanos y de roedores que tendrían implicancias en el tratamiento de la EP (Offen y col., 2001) y protegió a las neuronas DA humanas de la toxicidad inducida por salsolinol, confirmando su aplicación en la EP (Shavali y col., 2003). La sobreexpresión del IGF-I aumentó la neurogénesis y restauró las neuronas inmaduras en la zona subgranular luego de una lesión cerebral traumática en el hipocampo (Carlson y col., 2014). Kuhn y col. (1996) comunicaron descenso de la neurogénesis en el giro dentado de la rata y la relacionaron con una disminución de la proliferación de las células precursoras de las neuronas granulares. El déficit cognitivo, característico del envejecimiento, se asoció con una disminución de la neurogénesis en el giro dentado (Kuhn y col., 1996), así como con un incremento de la astrogliosis en la zona del stratum radiatum del hipocampo (Nichols y col., 1993). Lee y col. (2014) hallaron descenso del IGF-I y de su receptor en las células piramidales de la corteza somatosensorial y en las neuronas granulares del hipocampo durante el envejecimiento. Además, en un modelo de rata con ataxia cerebelosa, inducido por acetilpiridina, la administración de IGF-I restauró la coordinación motora y rescató parcialmente las neuronas de la oliva inferior (Fernández y col., 1998). El envejecimiento normal se caracteriza por una declinación en el aprendizaje y la memoria dependiente del hipocampo, en acuerdo con los resultados de nuestro laboratorio al aplicar el Test de Barnes (Barnes, 1979; Pardo y col., 2013). La GH y el IGF-I modularon la transmisión sináptica excitatoria y la plasticidad del hipocampo en ratas viejas, cambiando el curso del deterioro cognitivo con estimulación de la transmisión glutamatérgica (Molina y col., 2012 y 2013).

Markowska y col. (1998) documentaron que la administración icv del péptido IGF-I mejora el aprendizaje espacial y el reconocimiento de objetos, incrementando la transmisión sináptica en la región CA1, con inducción de neurogénesis en ratas seniles y también Lichtenwalner y col. (2001) demostraron que la infusión icv de IGF-I mejora la neurogénesis del giro dentado hipocampal en ratas seniles. Liquitaya-Montiel y col. (2012) constataron que el IGF-I promueve la restauración morfológica y la recuperación funcional después de una lesión focal en el giro dentado. Dupraz y col. (2013) comunicaron que el receptor del IGF-I resulta esencial para la regeneración axonal de las neuronas del SNC adulto. Las ventajas de la evaluación del sistema neuroendocrino ya se demostraron en ratas Brattleboro, al estudiar

un mutante con ausencia de arginina-vasopresina (AVP) que ha sido usado como modelo de diabetes insípida (Valtin, 1992). Se detectó expresión de AVP en las células magnocelulares e inmunohistoquímica positiva en los axones que se proyectan a la pituitaria posterior, cuando un vector adenoviral que endocodifica para ADNc AVP fue inyectado por estereotaxia en el núcleo supraóptico de las ratas Brattleboro. La medición de la osmolaridad y de la cantidad de orina mostró síntomas de diabetes insípida que fue reducida significativamente luego de los 4 meses de la inyección del vector viral (Geddes y col., 1996). La injuria hipóxica por isquemia mostró cambios en el eje IGF-I/IGFBP del cerebro de rata, restringiendo la pérdida neuronal asociada a astrocitos reactivos que expresaron IGFBP-2 (Beilharz y col., 1998) e indujo expresión de ARNm de IGF-I, luego de una noxa traumática en el cerebro postnatal (Li y col., 1998).

Se implementó terapia génica restaurativa a corto y largo plazo con el factor neurotrófico IGF-I en un modelo fisiológico de envejecimiento y evalúa el grado de degeneración neuronal hipotalámica e hipocampal. El aumento en el número de células doblecortina positivas en el giro dentado de los animales viejos sometidos a terapia génica con IGF-I sugiere que el tratamiento estimuló la neurogénesis en dicha región y parece haber revertido el aumento en el número de astrocitos en el *stratum radiatum* que normalmente ocurre con la edad. Los resultados del test de Barnes mostraron cambios moderadamente favorables en algunos aspectos de la performance cognitiva (Pardo y col., 2013; 2016).

Concluyendo, se demostró que la terapia génica con IGF-I revierte la disfunción del sistema TIDA hipotalámico y provoca un efecto neurogénico sobre el giro dentado en ratas hembras envejecidas.

Referencias

- Aberg MA et al. Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20:2896-2903.
- Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: a neurophysical and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 93(1):74-104, 1979.
- Beilharz EJ et al. Coordinated and cellular specific induction of the components of the IGF/IGFBP axis in the rat brain following hypoxic-ischemic injury. *Brain Res Mol Brain Res* 59:119-134, 1998.
- Bergelson JM et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* 275(5304):1320-23, 1997.
- Bolognani F, Goya RG: Gene therapy in the neuroendocrine system: its implementation in experimental models using viral vectors. *Neuroendocrinology* 73:75-83, 2001.
- Breese CR et al. Expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein 2 (IGF-BP2) in the hippocampus following cytotoxic lesion of the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 369(3):388-404, 1996.
- Carlson SW et al. Conditional overexpression of insulin-like growth factor-1 enhances hippocampal neurogenesis and restores immature neuron dendritic processes after traumatic brain injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 73(8):734-746, 2014.
- Carro E et al. Therapeutic actions of insulin-like growth factor I on APP/PS2 mice with severe brain amyloidosis. *Neurobiol Aging* 27(9):1250-57, 2006.
- Carro E et al. Serum insulin-like growth factor I regulates brain amyloid-beta levels. *Nat Med* 8(12):1390-97, 2002.
- Castro MG et al. Expression of transgenes in normal and neoplastic anterior pituitary cells using recombinant adenoviruses: long term expression, cell cycle dependency, and effects on hormone secretion. *Endocrinology* 138(5):2184-94, 1997.
- Cónsole G et al. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 95(3):157-166, 1997.
- Cónsole GM et al. Insulin-like growth factor-I gene therapy reverses morphologic changes and reduces hyperprolactinemia in experimental rat prolactinomas. *Mol Cancer* 7:13, 2008.
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(3):935-939, 1984.
- Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II: peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10:68-91, 1989.
- de Rijk MC et al. Prevalence of Parkinson's disease in the elderly: the Rotterdam study. *Neurology* 45:2143-2146, 1995
- Díaz-Torga G et al. Disruption of the D2 dopamine receptor alters GH and IGF-I secretion and causes dwarfism in male mice. *Endocrinology* 43:1270-1279, 2002.
- Doré S, Kar S, Quirion R. Insulin-like growth factor-1 protects and rescues hippocampal neurons against amyloid- and amylin-induced toxicity. *PNAS* 94(9):4772-77, 1997.
- Dupraz S et al. The insulin-like growth factor 1 receptor is essential for axonal regeneration in adult central nervous system neurons. *PLoS* 8(1): 354462, 2013.
- Fernández AM et al. Insulin-like growth factor I restores motor coordination in a rat model of cerebellar ataxia. *PNAS* 95:1253-1258, 1998.
- Franceschi M et al. Tubero-infundibular dopaminergic function in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 28(3):117-119, 1988.

- Goudreau JL et al. Evidence that hypothalamic periventricular dopamine neurons innervate the intermediate lobe of the rat pituitary. *Neuroendocrinology* 56(1):100-105, 1992.
- Goya RG et al. Use of recombinant herpes simplex virus type I vectors for gene transfer into tumour and normal anterior pituitary cells. *Mol Cell Endocrinol* 139(1-2):199-207, 1998.
- Gudelsky GA, Nansel DD, Porter JC. Dopaminergic control of prolactin secretion in the aging male rat. *Brain Res* 1981; 204:446-450.
- Hereñú C et al. Restorative effect of insulin-like growth factor-I gene therapy in the hypothalamus of senile rats with dopaminergic dysfunction. *Gene Therapy* 14(3):237-245, 2007.
- Hidaka C et al. CAR-dependent and CAR-independent pathways of adenovirus vector-mediated gene transfer and expression in human fibroblast. *J Clin Invest* 103(4):579-587, 1999.
- Hitt M, Bett A, Prevec L, Graham FL. Construction and propagation of human adenovirus vectors. In: *Cell Biology: A Laboratory Handbook*. Academic Press, 1998: 1500-1512.
- Ideguchi M et al. Local adenovirus-mediated CTLA4-immunoglobulin expression suppresses the immune responses to adenovirus vectors in the brain. *Neuroscience* 95(1):217-226, 2000.
- Ilan Y et al. Oral tolerization to adenoviral antigens permits long-term gene expression using recombinant adenoviral vectors. *J Clin Invest* 99(5):1098-1106, 1997.
- Junnila RK et al. The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity. *Nat Rev Endocrinol* 9(6):366-376, 2013.
- Kawano H, Daikoku S Functional topography of the rat hypothalamic dopamine neuron systems: retrograde tracing and immunohistochemical study. *J Comp Neurol* 265:242-253, 1997.
- Knusel B et al. Selective and nonselective stimulation of central cholinergic and dopaminergic development in vitro by nerve growth factor, basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, insulin and the insulin-like growth factors I and II. *J Neurosci* 10(2):558-570, 1990.
- Korell M, Tanner CM. Epidemiology of Parkinson's disease: An overview. In: Ebadi M, Pfeiffer RF (eds.) *Parkinson's Disease*. CRC Press, Boca Raton, FL, 2004; 233-242.
- Kuhn HG et al. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 16(6):2027-2033, 1996.
- Lee CH et al. Decreased insulin-like growth factor-I and its receptor expression in the hippocampus and somatosensory cortex of aged mouse. *Neurochem Res* 39(4):770-776, 2014.
- Li XS et al. Induction of IGF-1 mRNA expression following traumatic injury to the postnatal brain. *Brain Res Mol Brain Res* 57:92-96, 1998.
- Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Bennett SA, Lynch CD, Sonntag WE, Riddle DR. Intracerebroventricular infusion of insulin-like growth factor-I ameliorates the age-related decline in hippocampal neurogenesis. *Neuroscience* 107(4):603-613, 2001.
- Liquitaya-Montiel A et al. Insulin growth factor-I promotes functional recovery after a focal lesion in the dentate gyrus. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 11(7):818-828, 2012.
- Liu X et al. Study of the correlation about IGF-I receptor and β -amyloid in Alzheimer's disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 92(15): 1062-1065, 2012.
- Mariño G et al. Insulin-like growth factor 1 treatment extends longevity in a mouse model of human premature aging by restoring somatotroph axis function. *Proc Natl Acad USA* 107(37):16268-73, 2010.
- Markowska AL et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) ameliorates age related behavioral deficits. *Neuroscience* 87:559-569, 1998.
- Mayeux R et al. The frequency of idiopathic Parkinson's disease by age, ethnic group and sex in northern Manhattan, 1988-1993. *Am J Epidemiol* 1995; 142:820-827.
- Molina DP et al. Growth hormone modulates hippocampal excitatory synaptic transmission and plasticity in old rats. *Neurobiol Aging* 33(9):1938-1949, 2012.
- Molina DP et al. Growth hormone and insulin-like growth factor-I alter hippocampal excitatory synaptic transmission in young and old rats. *Age (Dordr)* 35(5):1575-1587, 2013.
- Nishida F et al. Restorative effect of intracerebroventricular insulin-like growth factor-I gene therapy on motor performance in aging rats. *Neuroscience* 177:195-206, 2011.

- Oberbauer AM. The regulation of IGF-1 gene transcription and splicing during development and aging. *Front Endocrinol (Lausanne)* 4:39, 2013.
- Offen D et al. Protective effect of insulin-like-growth-factor-1 against dopamine-induced neurotoxicity in human and rodent neuronal cultures: possible implications for Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 316:129-132, 2001.
- Pardo J et al. Terapia génica icv con IGF-I para tratar el déficit cognitivo relacionado a la edad en la rata senil. LVIII Reunión Científica Anual, Sociedad Argentina de Investigación Clínica. *Medicina* 73, Supl. III: 216, 2013.
- Pardo J et al. Insulin-like growth factor-I gene therapy improves pattern separation memory and hippocampal morphology in aging rats. *European Journal of Neuroscience*, 44(4):2120-2128, 2016.
- Park JS et al. A helper-dependent adenovirus vector system: removal of helper. *J Virol* 93(24):13565-70, 1996.
- Parks RJ, Graham FL. A helper-dependant system for adenovirus vector production helps define a lower limit for efficient DNA packaging. *J Virol* 71(4):3293-98, 1997.
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego, USA. Academic Press, 1998.
- Pérez-Martín M et al. IGF-I stimulates neurogenesis in the hypothalamus of adult rats. *Eur J Neurosci* 31(9):1533-1548, 2010.
- Porter JC et al. Secretion by hypothalamic dopaminergic neurons of the aged brain. *Neurobiol Aging* 15:535-539, 1994.
- Porter JC et al. Some aspects of hypothalamic and hypophysial secretion in aging rats. *Peptides* 1:135-139, 1980.
- Reymond MJ, Porter JC. Secretion of hypothalamic dopamine into pituitary stalk blood of aged female rats. *Brain Res Bull* 1981; 7:69-73, 1981.
- Sánchez HL et al. Impact of very old age on hypothalamic dopaminergic neurons in the female rat: a morphometric study. *J Comp Neurol* 458(4):319-325, 2003.
- Sánchez HL et al. Dopaminergic mesencephalic systems and behavioral performance in very old rats. *Neuroscience* 154(4):1598-1606, 2008.
- Sarkar DK, Gottschall PE, Meites J. Damage to hypothalamic dopaminergic neurons is associated with development of prolactin-secreting pituitary tumors. *Science* 218(4573):684-686, 1982.
- Schwerdt J, López-Leon M, Cónsole MG, Brown AO, Morel GR, Spinedi E, Goya RG. Rejuvenating effect of long-term IGF-I gene therapy in the hypothalamus of aged rats with dopaminergic dysfunction. *Rejuvenation Research*, 2017.
- Schwerdt JI, Cónsole GM, Spinedi EJ, Camihort G, Luna G, Brown OA, Goya RG. Morphological changes induced by long-term insulin-like growth factor-I gene therapy in spontaneous prolactinomas of senile female rats. *Neuroendocrinology*, 2016.
- Schwerdt JI, Hereñú CB, Rimoldi OJ, Luna G, Camihort G, Goya RG, Cónsole GM. Terapia génica hipotalámica con IGF-I en ratas hembras viejas. *Medicina* 73(Supl. III): 284, 2013.
- Shavali S, Ren J, Ebadi M. Insulin-like growth factor-1 protects human dopaminergic SH-SY5Y cells from Salsolinol-induced toxicity. *Neurosci Lett* 340:79-82, 2003.
- Sherlock M, Toogood AA. Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary* 10(2):189-204, 2007.
- Shimohama S et al. Disease model: Parkinson's disease. *Trends Mol Med* 9:360-365, 2003.
- Sonntag WE et al. Alterations in insulin-like growth factor-1 gene and protein expression and type 1 insulin-like growth factor receptors in the brains of ageing rats. *Neuroscience* 88(1):269-279, 1999.
- Sortino MA, Canonico PL. Neuroprotective effect of insulin-like growth factor I in immortalized hypothalamic cells. *Endocrinology* 137:1418-1422, 1996.
- Torres-Aleman I et al. Trophic effects of insulin-like growth factor-I on fetal rat hypothalamic cells in culture. *Neuroscience* 35(3):601-608, 1990.
- Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* 21:1628-1634, 2001.

- Vestergaard PF et al. Serum levels of bioactive IGF1 and physiological markers of ageing in healthy adults. *Eur J Endocrinol* 2013; 170(2):229-236, 2013.
- Walter HJ et al. Spatial and temporal changes in the insulin-like growth factor (IGF) axis indicate auto-crine/ paracrine actions of within wounds of the rat brain. *Endocrinology* 138:3024-3034, 1997.
- Xu J et al. Longevity effect of IGF-1R (+/-) mutation depends on genetic background-specific receptor activation. *Aging Cell* 13(1):19-28, 2014.
- Xu Y et al. Neurogenesis in the ependymal layer of the adult rat 3rd ventricle. *Exp Neurol* 192:251-264, 2005.
- Yao DL et al. Cryogenic spinal spinal cord injury induces astrocytic gene expression of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 2 during myelin regeneration. *J Neurosci Res* 40:647-659, 1995.

CAPÍTULO 11

HIPÓFISIS Y FOTOPERÍODOS

11.1 Fotoperíodos

Existen dos principales mecanismos biológicos temporales que han evolucionado para la adaptación al medio:

- A. **Reloj circanual** (1 año).
- B. **Reloj circadiano** (24 hs) que controla el fotoperíodo.

Sáenz de Miera y col. (2014) estudiaron los genes centrales de la reproducción en hámsteres machos europeos y detectaron un reloj circanual.

Hazlerigg y Lincoln (2011) ofrecen 4 argumentos que apoyan la hipótesis de la histogénesis cíclica en el ritmo circanual:

- A. Es un proceso frecuente en la remodelación estacional fisiológica y opera en tiempos largos autónomos.
- B. Los experimentos en los que se seleccionan señales endócrinas periféricas constantes, el ritmo circanual no es el producto de los mecanismos de retroalimentación hormonal.
- C. Las hormonas que controlan la proliferación, diferenciación y organogénesis afectan profundamente el ritmo circanual.
- D. El punto de convergencia entre las vías de entrada fotoperiódicas y la expresión del ritmo circanual se produce a nivel hipotálamo-hipofisario.

La respuesta fisiológica adecuada para cambiar el fotoperíodo en mamíferos requiere *la detección de la luz en la retina y de la secreción de melatonina en la glándula pineal*. Además, estos sistemas alteran la conversión hipotalámica de la hormona tiroidea (HT) y el reloj circadiano de la *pars tuberalis* se vincula con la decodificación del fotoperíodo, induciendo cambios de la HT en el hipotálamo mediobasal (Dardente y col., 2014).

La capacidad de medir la duración del día (fotoperíodo) es un rasgo sujeto a una intensa presión evolutiva. Estudios recientes documentaron la expresión de la HT en una población especializada de células fotoperiódicas sensibles en el tallo pituitario que a su vez regulan su metabolismo en el hipotálamo basal. Sería una vía de control ancestral que parece originarse antes de la divergencia de los linajes de vertebrados mamíferos y aves (Hazlerigg, 2012).

El cambio estacional en la HT es crucial y está mediado por enzimas de las células endimarias especializadas que tapizan el tercer ventrículo. La desiodinasa de tipo 2 se activa con la longitud del día de verano y convierte la tiroxina (T4) inactiva en triiodotironina (T3) activa. Además, la *pars tuberalis* tiene células especializadas tirotrópicas que expresan TSH y son reguladas por la señal de la duración del día que lleva a la activación de TSH para los días largos. Dichas células actúan sobre los receptores de TSH expresados en las células endimarias, causando la regulación local de las desiodinasas y la conversión de TH a la T3 metabólicamente activa.

En los mamíferos, la *pars tuberalis* está regulada por la **melatonina** nocturna. El temporizador local pituitario impulsado por la melatonina inicia una cascada de eventos moleculares dirigido por el regulador de transcripción que se traduce en cambios estacionales de la actividad neuroendocrina (Wood y Loudon, 2014).

La señal fotoperiódica en mamíferos es mediada por cambios en la melatonina que conduce a alteración en la expresión de los genes, de los circuitos neuronales y de la secreción hormonal.

El hipocampo es una de las estructuras más plásticas del cerebro adulto y la morfología neuronal de dicha región muestra diferencias inducidas por el fotoperíodo en los hámsteres siberianos, según lo documentado por Ikeno y col. (2013). Existe universalidad y diversidad en la traducción de la señal que regula la temporada de reproducción en los vertebrados (Nakane y Yoshimura, 2014).

Los cambios estacionales en el ciclo reproductivo de numerosas especies de mamíferos dependen de la longitud del fotoperíodo (Piezzi y col., 1984; Steger y col., 1985 a; van Tienhoven, 1986).

La **luz** es el estímulo más importante para la sincronización de los ritmos circadianos y estacionales. La duración del fotoperíodo es clave para que los animales con memoria fotoperiódica puedan sobrevivir. El sistema visual circadiano responde con sólo 3 flashes de 2 milisegundos entregados a los hámsteres durante 5 a 60 minutos y se requieren 10 parpadeos para la inducción de proteínas específicas en el núcleo supraquiasmático (Vidal y Morin, 2007).

El reloj circadiano de los mamíferos organiza los procesos rítmicos metabólicos, fisiológicos y conductuales, teniendo su expresión anatómica a nivel del hipotálamo. La adaptación al medio ambiente requiere de un ajuste preciso del reloj circadiano en ciclos de luz-oscuridad. Las fuentes eferentes del sistema nervioso serían el péptido intestinal vasoactivo (**VIP**) y la arginina-vasopresina (**AVP**).

Parecen existir mecanismos de gran plasticidad a nivel de los circuitos astrocítico y neuronales que relacionarían la sincronización luz/oscuridad en el núcleo supraquiasmático (Bosler y col., 2009). Dicha plasticidad del sistema circadiano se observa en todos los niveles: expresión génica, estabilidad de las proteínas y localización subcelular de proteínas clave, logrando un ajuste fino de la red y de la modulación de las señales para sincronizar la biología interna en un entorno cambiante (Muraro y col., 2013).

El factor de transcripción génico de la glándula pineal y del hígado en el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) se adapta a las condiciones de iluminación ambiental: **fotoperíodos largos (FL)** y **fotoperíodos cortos (FC)**, adecuándose a los parámetros endocrinos y metabólicos (Maronde y col., 2007).

Los hámsteres muestran grandes cambios de fase inducidos por una luz máxima en los FC, al comparar con los FL. Sin embargo, los efectos de la longitud del fotoperíodo siguen siendo desconocidos. Los hámsteres sirios, sometidos a FL o FC y expuestos a un pulso de luz de 15 minutos (y de 0-68.03 mW/cm), con aumento de irradiancias, mostraron un mayor reajuste de fases y un incremento de 40 veces de la sensibilidad fótica en el FC.

La modulación de la sensibilidad a la luz por el fotoperíodo significa que menos luz es necesaria para provocar una respuesta circadiana (en 24 hs) bajo los días más cortos del invierno y caracteriza los mecanismos que alteran la respuesta fotónica en el fotoperíodo. Estos resultados podrían aplicarse al tratamiento de los ritmos circadianos y a los trastornos afectivos en seres humanos (Reiter, 1991; Glickman y col., 2012).

La grelina y la serotonina son sensibles a los aumentos y disminuciones de la duración del día y están relacionadas con el núcleo supraquiasmático que es un marcapasos circadiano y la melatonina que es un transductor interno de los cambios ambientales fóticos (Kirsch y Zieba, 2012).

La adaptación del hámster sirio se refleja en los cambios estacionales del ciclo reproductivo. En su medio ambiente natural, el hámster dorado (*Mesocricetus auratus*) presenta un incremento en la capacidad reproductiva en primavera-verano, con una severa involución gonadal en otoño-invierno al pasar a FC que cursa con reducción de los niveles séricos de PRL y testosterona (Bartke y col., 1975; 1980 y 1985; Steger y col., 1983).

Los hámsteres del desierto (*Phodopus roborovskii*) bajo FC disminuyeron la masa corporal, elevaron la termogénesis adaptativa, desacoplaron la proteína UCP1 en el tejido adiposo pardo y suprimieron la reproducción al comparar con los animales en FL. No mostraron diferencias en el consumo de energía o en la concentración de leptina. Esta especie del desierto no sería sensible a los cambios en el fotoperíodo (Zhang y col., 2014).

Bajo condiciones de luz artificial en el laboratorio, los hámsteres adultos machos sometidos a FL mantienen el tamaño y la función testicular. Al contrario, aquéllos sometidos a FC (menos de 12.5 hs luz/día) sufren severa regresión testicular, inhibición de la espermatogénesis y declinación de los niveles séricos

de LH, FSH, PRL (Berndtson y Desjardins, 1974; Bex y Bartke, 1977; Bex y col., 1978; Bartke, 1980, 1985; Bernard y col., 2000) y descenso en las concentraciones gonadales de testosterona y sus precursores (Desjardins y col., 1971; Chandrashekar y Bartke, 1989; Frungieri y col., 1996a).

El retorno a más de 12.5 horas luz/día reestablece la función gonadal y es denominada “**recrudescencia inducida**” por Berndtson y Desjardins (1974).

Si los hámsteres machos son sometidos a FC por un período extendido de tiempo, tiene lugar la recuperación gonadal o “**recrudescencia espontánea**” (Turek y col., 1975).

La *pars tuberalis* es un centro importante para la transmisión de información a los circuitos neuroendocrinos fotoperiódicos implicados en la reproducción, metabolismo y comportamiento, enviando señales por vía retrógrada al hipotálamo y por vía anterógrada a la *pars distalis* (Yasou y Kort, 2011).

Se detectó un marcapasos circanual en mamíferos (ovejas) responsable de regular el patrón estacional de la PRL que reside en la *pars tuberalis* y expresa receptores de melatonina. Las gonadotropas estarían controladas indirectamente por las células vecinas sensibles a la melatonina, lo que les permite actuar como marcapasos (Hodson y col., 2013). Los FL estimulan y los FC inhiben la reproducción en los roedores fotoperiódicos, modificando la secreción de la melatonina pineal nocturna.

En hámsteres turcos, la pinealectomía (Px) induce quiescencia reproductiva comparable a los FC, con secreción de GnIH (Piekarski y col., 2014).

11.2 Población lactotropa sometida a fotoperíodos

El análisis morfométrico revela que la densidad de volumen ($DV \times 10^{-2}$) y la densidad de células ($DC \times 10^{-4}$) están disminuidas de modo significativo ($p < 0.05$) en los hámsteres sometidos a FC, comparados con los animales en FL (8, 16 y 22 semanas). En la semana 28 aparece una recrudescencia espontánea en los animales en FC (Cónsole y col., 2002a).

En la **fig. 11.1 a-h** se presentan los campos representativos de la población lactotropa inmunomarcada con anticuerpo anti-PRL, en las diferentes semanas de los fotoperíodos largos (FL) y de los fotoperíodos cortos (FC) que se correlacionan con los datos morfométricos registrados.

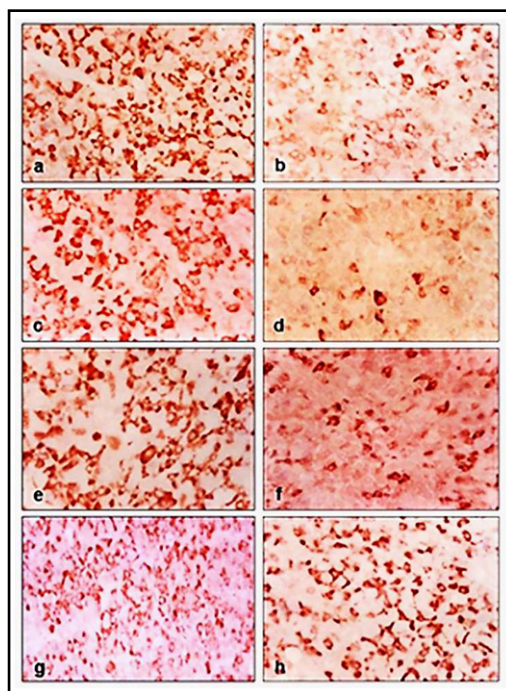


Fig. 11.1 a-h. Campos representativos de las lactotropas inmunomarcadas.

a. FL 8s, **b.** FC 8s, **c.** FL 16s, **d.** FC 16s, **e.** FL 22s, **f.** FC 22s, **g.** FL 28s, **h.** FC 28s.

(EnVision peroxidasa, anti-PRL, x 200).

En la **fig. 11.2** se muestra la densidad de volumen (DV) y la densidad de las células lactotropas (DC) en los fotoperíodos largos (FL) y fotoperíodos cortos (FC).

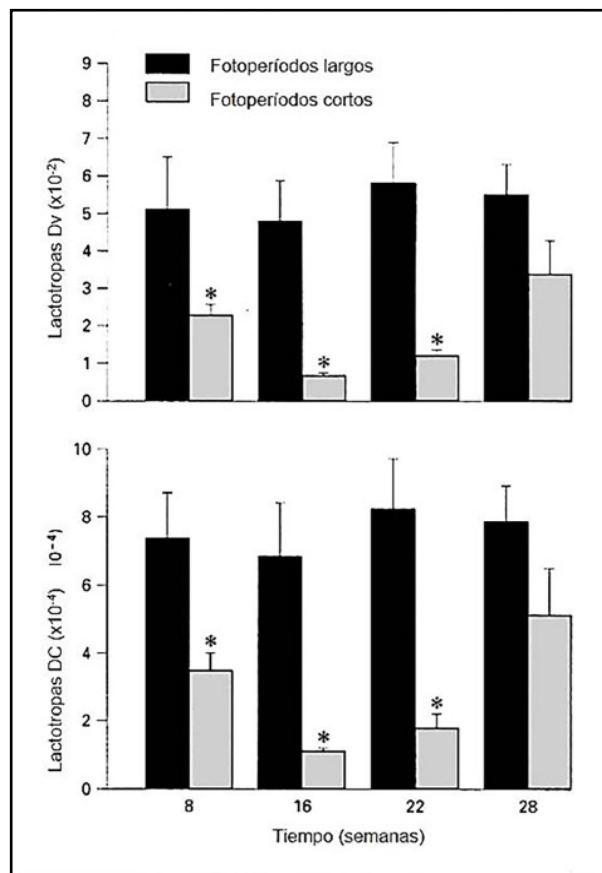


Fig. 11.2. Densidad de volumen (DV) y densidad de células (DC) en la población lactotropa de hámsters sometidos a FL y FC (*p < 0.05).

Wang y col. (1991; 1992), en concordancia con nuestro estudio IHQ, observaron en los hámsters dorados una deprivación continua desde las 8 semanas y un efecto inhibitorio sobre la actividad secretoria de las lactotropas, con una marcada hipoplasia/atrofia celular. Otros estudios han demostrado que la síntesis y liberación de PRL estuvieron inhibidas en hámsters expuestos a FC (Borer y col., 1982; Badura y Goldman, 1997).

Massa y Blask (1989) hallaron que la deprivación por ceguera o deprivación de luz por 42 a 56 días deprimió la actividad de las lactotropas en hámsters sirios, con significativa disminución de los niveles pituitarios de ARNm de la PRL. Stirland y col. (2001) vieron en hámsters dorados machos que la expresión génica de PRL estuvo descendida en FC de 8-12 semanas. Además, estos autores proveyeron la primera evidencia de que la síntesis de PRL está bajo la modulación fotoperiódica de un factor derivado de la *pars tuberalis*. Reiter y Johnson (1974) comunicaron la acción depresiva de la glándula pineal sobre la PRL y la LH. Orstead y Blask (1987) intentaron dilucidar la naturaleza de los cambios en la actividad de las lactotropas estudiando hámsters hembras ciegas o (Px) por 12 semanas. La liberación y depósito de PRL estuvo significativamente disminuido, como consecuencia de los mecanismos pineal-dependientes, ya que este proceso puede ser revertido con Px. Además, es posible que la inmunoreactividad de las isoformas glicosiladas de PRL sea menor después de la ceguera. Esto debería ser tenido en cuenta frente a la conocida heterogeneidad de las PRL en los roedores (Lewis y col., 1985).

Los hámsteres FL de 8 semanas exhiben lactotropas con numerosos gránulos secretorios redondeados grandes y medianos (**fig. 11.3**) (Cónsole y col., 2002a).

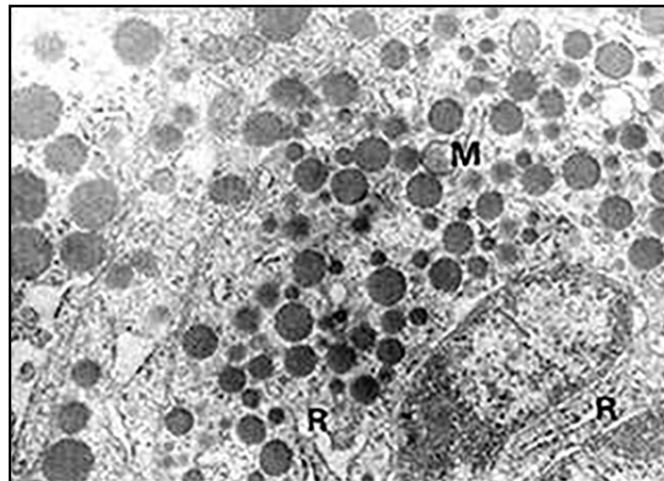


Fig. 11.3. Lactotropa FL 8 sem.: gránulos secretorios grandes y medianos, cisternas del RER (R), mitocondria (M) (x 18.400).

Fig. 11.4: Lactotropa FC 8 sem con gránulos secretorios medianos y grandes.

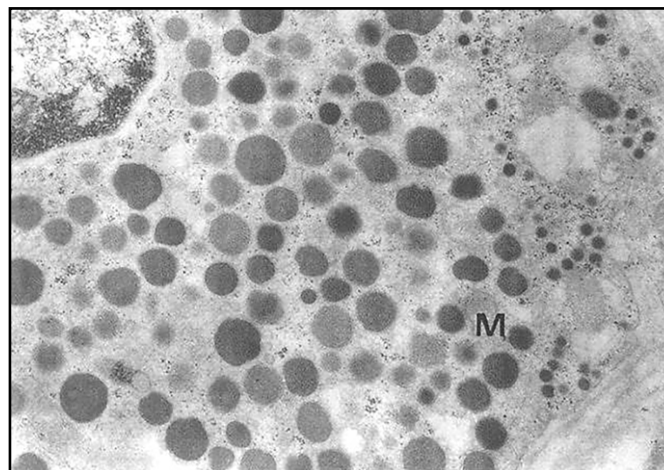


Fig. 11.4. Lactotropa FC 8 sem.: gránulos desigual densidad, mitocondria (M), (x 15.200).

Fig. 11.5: lactotropa FL 22 sem.: gránulos secretorios pequeños y medios.

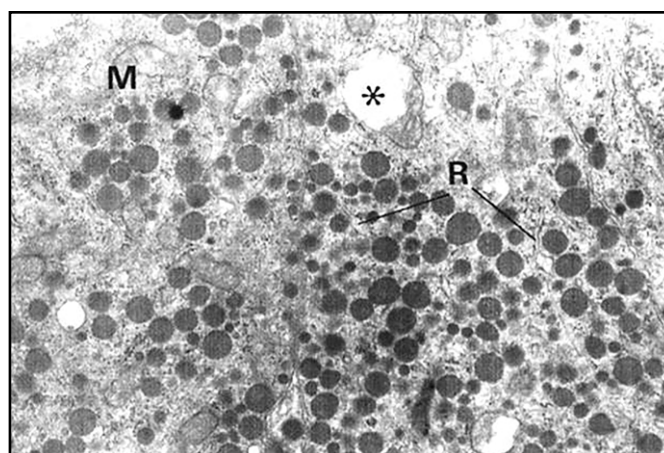


Fig. 11.5. Lactotropa FL 22 sem.: cisternas aplanadas del RER (R), mitocondria normal (M) y * distorsionada (x 16.000).

Fig. 11.6: lactotropa FC 22 sem.: gránulos secretorios pleomórficos, RER, mitocondrias y Golgi con cisternas dilatadas y algunos gránulos inmaduros (**fig. 11.6**).

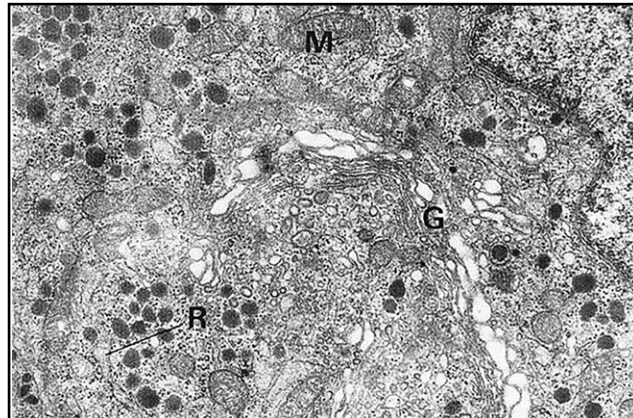


Fig. 11.6. Lactotropa FC 22 sem.: gránulos secretorios pleomórficos, RER (R), mitocondrias (M) y Golgi (G) dilatado (x 15.200).

Fig. 11.7: muestra una lactotropa de hámster sometido a FL de 28 semanas.

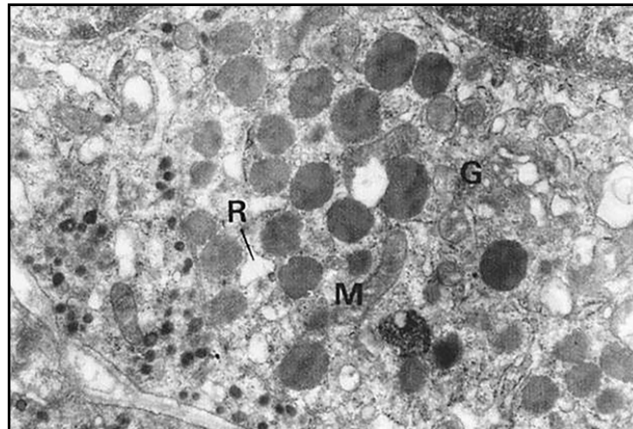


Fig. 11.7. Lactotropa FL 28 sem.: grandes gránulos secretorios irregulares, RER algo dilatado, mitocondria (M) y Golgi (G) (x 16.000).

La **fig. 11.8** muestra gránulos secretorios medianos y grandes, así como numerosas cisternas del RER dilatadas e irregulares.

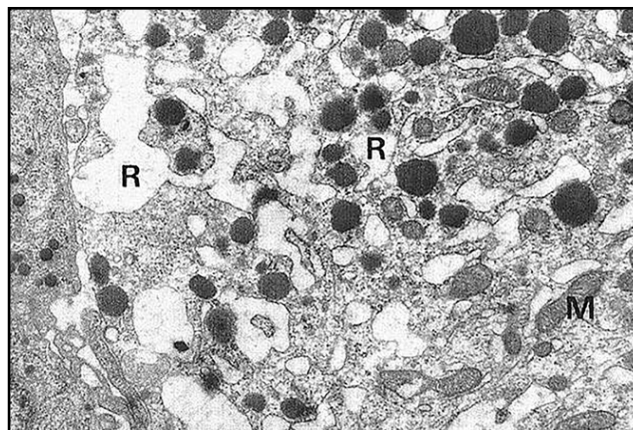


Fig. 11.8. Lactotropa FC 28 sem.: gránulos secretorios medianos y grandes, RER dilatado con cisternas irregulares y mitocondria (M) (x 16.000).

Los hallazgos ultraestructurales en la población lactotropa presentaron una significativa disminución en el número y tamaño de los gránulos secretorios en los hámsteres bajo FC a las semanas 16 y 22, indicando descenso en la síntesis y depósito de PRL (Cónsole y col., 2002a). Los animales expuestos a FL mostraron similitudes con las observaciones comunicadas en las pituitarias de hámsteres chinos (Deslex y col., 1976). El estudio inmunoelectrónico en hámsteres dorados privados de luz y expuestos a la oscuridad permanente durante 8 semanas (Wang y col., 1992) presentó lactotropas atróficas con pequeños gránulos (células tipo A), mientras los Px resultaron con un incremento de lactotropas con gránulos de tamaño medio (tipo B) y grandes (tipo C), similares a los de los animales intactos.

La morfometría ultraestructural (**cuadros 11.1-11.2**) registró descenso significativo ($p < 0.05$) en el número de los gránulos secretorios y en los perfiles exocíticos en las semanas 16 y 22, respecto a los animales en FL. No se detectaron cambios en las semanas 8 y 28 de los FC.

Cuadro 11.1. Número de los elementos ultraestructurales en lactotropas (x 50 μm^2).

Número de elementos	FL				FC			
	8s	16s	22s	28s	8s	16s	22s	28s
Gránulos secretorios	124±8	114±6	117±5	128±8	129±9	73±5*	72±7*	124±9
Mitocondrias	16±2	15±2	13±1.8	16±1.6	14±1.4	15±1.5	16±2	17±2
Perfiles exocíticos	2 ±0.2	2±0.3	3±0.4	3±0.3	3±0.7	1.4±0.1*	1.2±0.1*	3±0.8

Cada grupo es el promedio ± ES de 4 animales/grupo sometidos a FL y FC (* $p < 0.05$).

El análisis morfométrico ultraestructural (Cónsole y col., 2002a) reflejó alteraciones en la síntesis y liberación de la PRL en animales mantenidos bajo FC en las semanas 16 y 22. En concordancia, Merks y col. (1993) hallaron en la *pars tuberalis* de hámsteres machos Djungarian una menor actividad exocítica en el FC.

El estudio del área (unidad de área: 50 μm^2) registra un descenso significativo ($p < 0.05$) en el complejo de Golgi, el RER y los gránulos secretorios (**cuadro 11.2**) durante las semanas 16 y 22 de los FC, respecto a animales en FL, permitiendo inferir un descenso en la síntesis y depósito de PRL. No hay cambios durante las semanas 8 y 28 en los hámsteres sometidos a FC y en los diferentes tiempos de los FL.

Cuadro 11.2 Áreas de elementos ultraestructurales en las lactotropas (x 50 μm^2).

Áreas	FL				FC			
	8s	16s	22s	28s	8s	16s	22s	28s
Golgi	2±0.4	3±0.6	3±0.4	2±0.2	2±0.3	1.2±0.1*	1.4±0.1*	3±0.5
RER	5±1	4±1.7	4±1.4	5±1.5	4±1.3	2.7±0.7*	3±0.5*	8±0.9
Mitocondrias	2±0.3	2±0.4	2±0.3	3±0.3	2±0.4	3.0±0.5	3±0.3	3±0.2
Gránulos secretorios	12±2	11±2	11±1.4	11±1.6	11±1.7	5±0.5*	5±0.8*	10±2.0
Gránulo individual	0.1±0.01	0.1±0.02	0.08±0.01	0.13±0.02	0.1±0.01	0.04±0.01*	0.05±0.01*	0.09±0.03

Cada grupo representa el promedio ± ES, n=4, FL y FC, * $p < 0.05$.

Este mecanismo de *recrudescencia espontánea* aun no estaría bien dilucidado. Nuestros resultados estuvieron en concordancia con los de Steger y Bartke (1991), quienes observaron un descenso significativo en la PRL sérica desde las 8 semanas del FC.

Los niveles séricos de PRL (**fig. 11.9**) estuvieron severamente reducidos bajo el FC ($p < 0.05$) en las semanas 8, 16 y 22. Este descenso fue más marcado en la semana 16 y cuando los hámsteres fueron mantenidos por 22 semanas bajo FC, los niveles comenzaron a recuperarse. Luego, en la semana 28, los valores de PRL retornaron a niveles cercanos a los detectados en los animales de FL (Cónsole y col., 2002a).

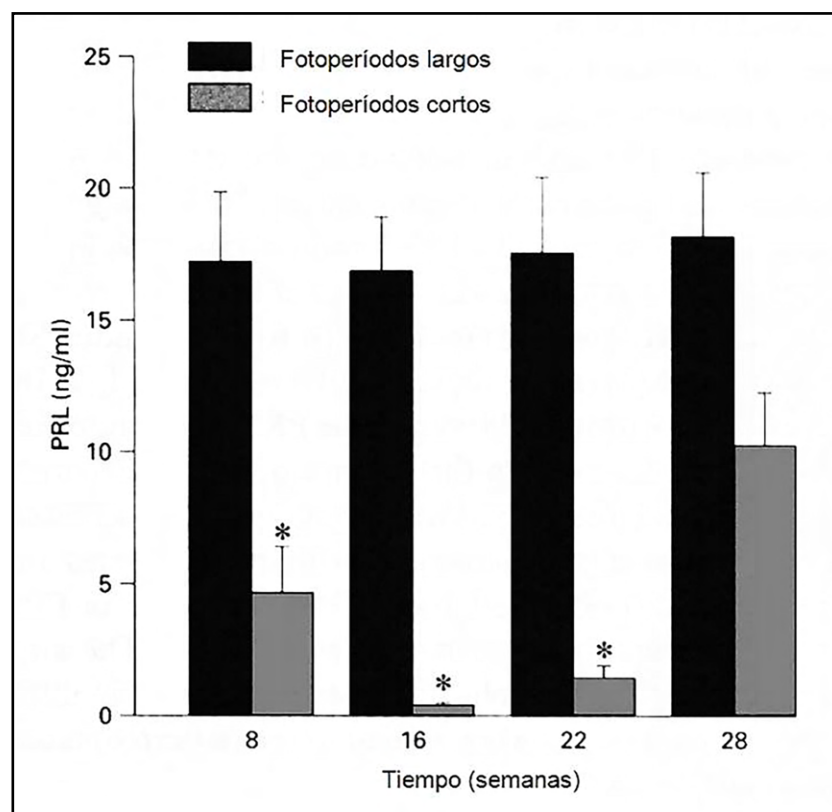


Fig. 11.9. Efecto de los FL y FC sobre los niveles séricos de PRL (* $p < 0.05$). (Cónsole y col., 2002a).

Junto con la involución reproductiva, se ha demostrado una inhibición en la síntesis, depósito y liberación de la PRL en pituitarias de hámsteres dorados machos y hembras expuestos a FC (Malpaux y col., 1999; Bernard y col., 2000). Los cambios fotoperiódicos fueron debidos en parte al descenso en la secreción de PRL, ya que los homoinjertos pituitarios restauraron la función testicular en hámsteres regresionados (Kriegsfeld y Nelson, 1998). Los homoinjertos pituitarios secretores de PRL debajo de la cápsula renal retrasaron la regresión reproductiva en hámsteres machos en FC (Reiter y Ferguson, 1979). Los FC aumentaron la capacidad de la dopamina para suprimir la secreción de PRL y este efecto podría ser revertido por un injerto ectópico de hipófisis (Steger y col., 1985b).

El efecto supresivo del FC sobre la liberación de PRL sería mediado por el sistema tuberoinfundibular dopaminérgico (TIDA). La dopamina falló para inhibir la síntesis de PRL *in vitro*, pero no su liberación en los hámsteres machos sometidos a FL (Meites y Sonntag, 1981). Además, la respuesta pituitaria a la

dopamina sobre la secreción de PRL aumentó en los FC, pero no al grado de poder explicar la marcada reducción en la liberación de PRL (Pickard y Silverman, 1979).

Blask y Orstead (1986b) detectaron que la dopamina regularía la liberación de PRL a corto plazo, mientras Steger y col. (1995) sugirieron que el descenso en la secreción de PRL asociado a la transferencia de los hámsteres machos de FL a FC, sería causado en parte por un aumento en el reemplazo de las neuronas dopaminérgicas.

Se han propuesto cambios en la sensibilidad de las lactotropas. No se descarta la influencia de otros factores moduladores del fotoperíodo, al inhibir la liberación de la dopamina que regula la secreción de la PRL.

Steger y Bartke (1991) hallaron alteraciones en el recambio de la melatonina, noradrenalina y dopamina en los FC. También describieron la habilidad del FC para causar un recambio de la dopamina y sugirieron que el efecto supresor sobre la liberación de PRL, podría ser mediado por la activación del sistema TIDA y la influencia inhibitoria de la *pars neural*. Estos grupos neuronales podrían estar directa o indirectamente estimulados por una señal pineal-dependiente de la melatonina. Leadem y col. (1988) propusieron mayor actividad en las neuronas dopaminérgicas. La dopamina, el factor inhibitorio fisiológico de la PRL, inhibiría la actividad de las lactotropas. Otros factores inhibitorios y estimulatorios de la PRL podrían modular los efectos del fotoperíodo sobre la secreción de la hormona y esto estaría relacionado con una vía pineal-independiente.

La *pineal* influye sobre la *pars intermedia* pituitaria para responder al mecanismo natural del fotoperíodo (Piezzi y col., 1984).

La privación de la luz, inducida ya sea por exposición a FC o enucleación óptica bilateral, causó una significativa reducción en la PRL pituitaria o circulante. Esto llevaría a una atrofia de los órganos reproductivos por medio de una inducción de la actividad, mientras que la Px previno los efectos supresores sobre las lactotropas (Reiter, 1980; Benson y Matthews, 1980; Blask y col., 1986a). Dicho efecto fue especialmente efectivo en hembras, mostrando un dimorfismo según sexo (Wang y col., 1991).

Lincoln (1999) propuso que la modulación de la secreción de PRL debería ser alcanzada por medio de los mecanismos filogenéticos más antiguos. Los mamíferos fotoperiódicos hipersecretan PRL los días largos mediante un mecanismo pineal-dependiente que estimularía la *pars tuberalis* poseedora de receptores de melatonina y regularía a las lactotropas de la *pars distalis*. La secreción de PRL es regulada a través de cambios fotoperiódicos en el perfil de 24 hs de melatonina y despliega ritmicidad circanual bajo un fotoperíodo constante. Estos dos procesos parecen ocurrir dentro de la pituitaria, controlada por la *pars tuberalis*.

Una dotación completa de genes se expresa en la *pars tuberalis* de la especie ovina y se someten a la expresión cíclica (24 hs) como se observa en las células autónomas del reloj circadiano (Lincoln y col., 2003).

Concluyendo, nuestros cambios IHQ cuantitativos, ultraestructurales y bioquímicos sugieren una inhibición de la síntesis, depósito y liberación de la PRL en hámsteres dorados machos sometidos a FC, con una recrudescencia espontánea al final del estudio.

11.3 Población gonadotropa sometida a fotoperíodos

Bernard y col. (1999) no hallaron diferencias significativas en los niveles circulantes de gonadotropinas en hámsteres sometidos de modo crónico a días cortos y largos, a pesar de las diferencias en el fotoperíodo. Sin embargo, a través de la transición de FC a FL los hámsteres machos exhibieron un aumento en el número de células expresando ARNm pre-hormona liberadora de gonadotropinas (pre-GnRH) en la mañana del segundo día largo. Los niveles de FSH comenzaron a aumentar a los 3-5 días después de que los hámsteres machos fueron transferidos de FC a FL.

El diseño experimental analizó los cambios inmunohistoquímicos y ultraestructurales de la población gonadotropa (folículo­tropa y luteinizante), así como las fluctuaciones de FSH y LH en hámsteres dorados machos que van primero a la regresión y luego a la recrudescencia espontánea. La inmunohistoquímica mostró gonadotropas con una distribución homogénea en las semanas 8, 16, 22 y 28 en hámsteres sometidos a FL y FC (**fig. 11.10 a-h**) (Cónsole y col., 2002b).

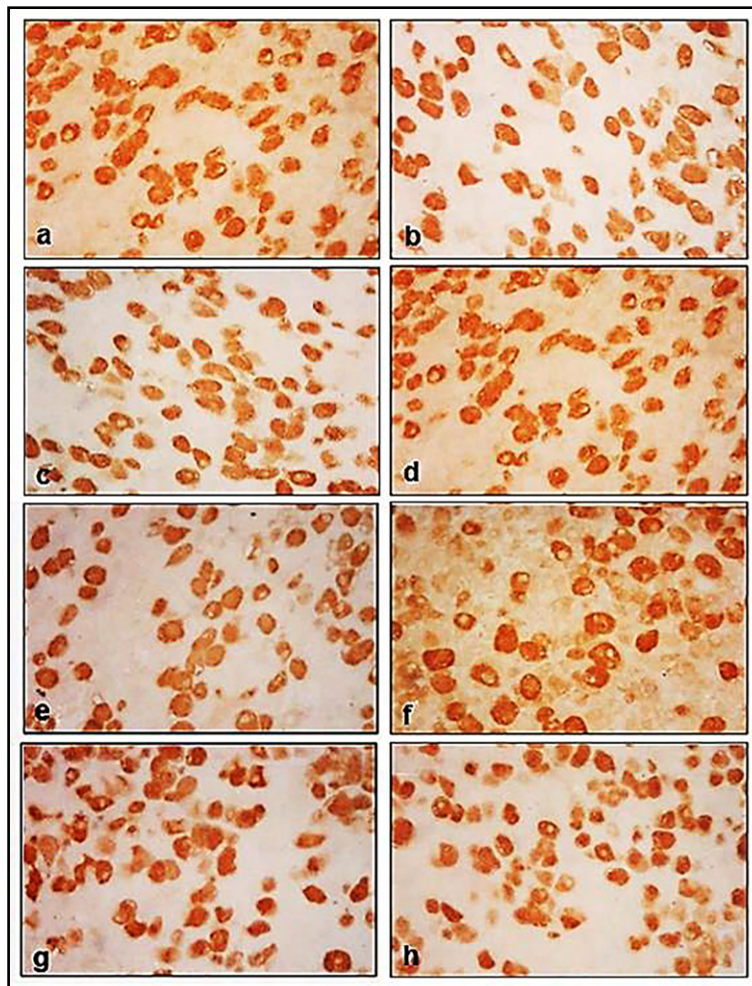


Fig. 11.10 a-h. Campos representativos de las gonadotropas inmunomarcadas. a. FL 8s, b. FC 8s (a-b células LH), c. FL 16s, d. FC 16s (c-d células FSH), e. FL 22s, f. FC 22s (células FSH), g. FL 28s, h. FC 28s (g-h: células LH) (EnVision peroxidasa, anti-LH-FSH, x 200) (Cónsole y col., 2002b).

El análisis histométrico de la población gonadotropa en hámsteres machos sometidos a FC no mostró diferencias significativas en densidad de volumen (DV $\times 10^{-2}$) y en densidad de células (DC $\times 10^{-4}$) durante las semanas 8, 16, 22 y 28, cuando se compararon con el grupo sometido a FL (**fig. 11.11**) (Cónsole y col., 2002b).

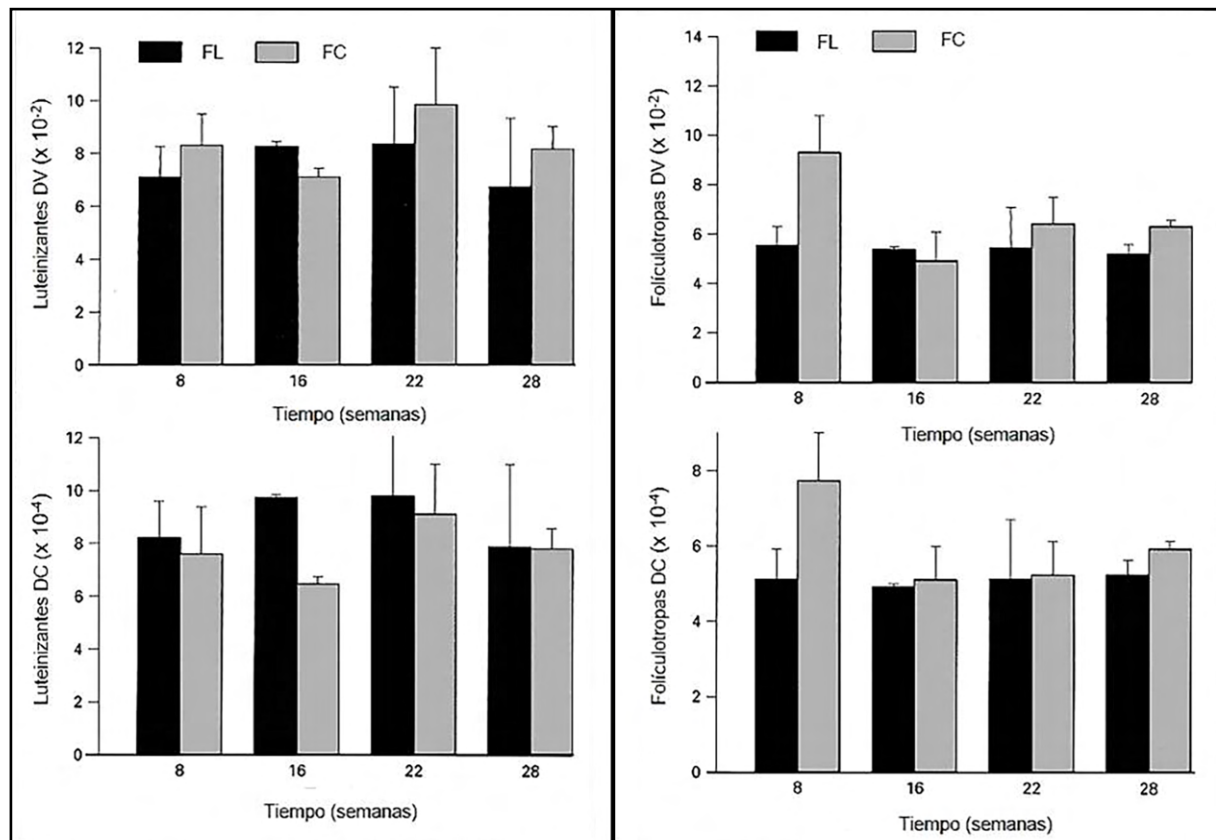


Fig. 11.11. Densidad de volumen (DV) y densidad de células (DC) en la población luteinizante y foliculotropa de hámsteres sometidos a FL y FC (* $p < 0.05$). (Cónsole y col., 2002b).

Los estudios a nivel pituitario revelaron la presencia de gonadotropas activas con marcada síntesis de LH y FSH. Estos resultados se correlacionaron con los hallazgos inmunohistoquímicos pituitarios que demostraron alteraciones en la liberación, pero sin cambios en la síntesis. La respuesta del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal en hámsteres dorados sometidos a FL determinó una estrecha ventana temporal en la que los mecanismos moleculares, celulares y funcionales mediaron para regular el fotoperíodo (Cónsole y col., 2002b).

El retorno a más de 12 hs luz/día capacitó para la recuperación de la actividad gonadal natural descrita por Berndtson y Desjardins (1974) como “recrudescencia inducida”. La señal de la luz pasa a través de numerosas sinapsis, desde la retina hasta la glándula pineal, donde se refleja como un ciclo diario de secreción de melatonina que aumenta durante la noche y decrece durante el día. La longitud del período de secreción nocturna de melatonina regula la secreción pulsátil de la GnRH hipotalámica y los cambios en su liberación indujeron alteraciones en la secreción de LH y FSH que fueron responsables de la ovulación y de las variaciones en la espermatogénesis (Malpaux y col., 1999). Los detectores de los fotoperíodos son críticos en los vertebrados, en particular para medir el tiempo del inicio de la reproducción de cada año. En las aves, los ojos no parecen controlar la información fotoperiódica y se han propuesto neuronas especializadas, llamadas fotorreceptores profundos del cerebro (en tabique y tres áreas hipotalámicas), para regular el fotoperíodo y activar la regulación neuroendocrina del desarrollo gonadal (Kuenzel y col., 2015).

A nivel ultraestructural, las gonadotropas de FL presentan un Golgi yuxtannuclear bien desarrollado, RER con cisternas laminares y numerosos gránulos secretorios de densidad electrónica variable (diáme-

tro: 150-250 nm) (figs. 11.12-11.14) (Cónsole y col., 2002b). En la fig. 11.12 se ve una célula FSH en fotoperíodo largo (FL) de 8 sem.: RER irregular y gránulos secretorios de desigual tamaño.

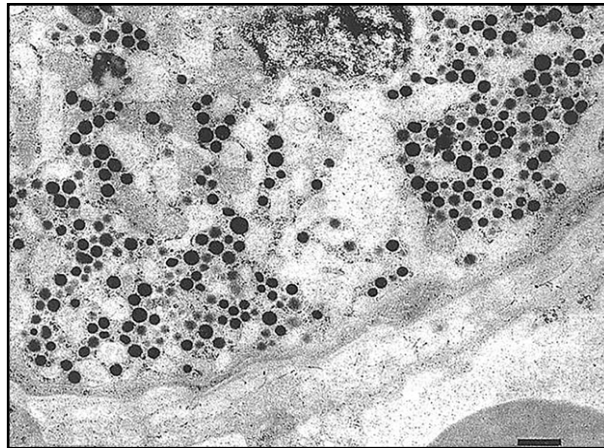


Fig. 11.12. Folículotropa FL 8sem: RER irregular y gránulos secretorios de tamaño variable (x 9.000, barra 1 um).

Fig. 11.13: FSH en FL 16 sem.: RER dilatado con material intraluminal.

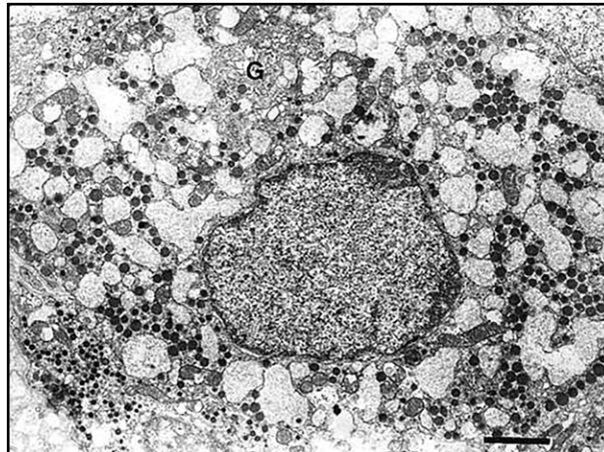


Fig. 11.13. Folículotropa FL 16 sem.: RER dilatado con material intraluminal (densidad moderada), Golgi (G) y gránulos de densidad variable (x 15.000, barra 1 um).

Fig. 11.14: FSH (FL) 28 sem.: RER dilatado irregular con material intraluminal.

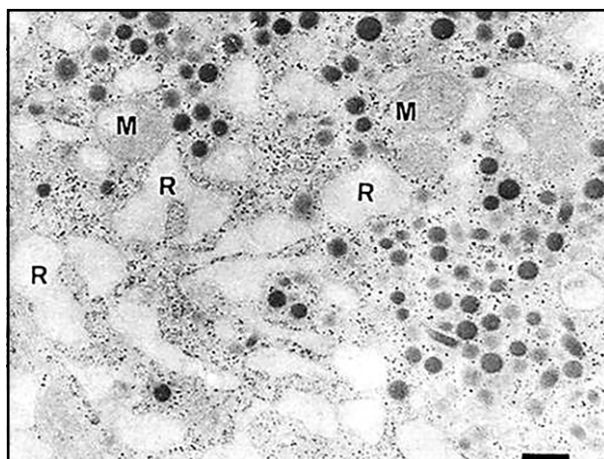


Fig. 11.14. FSH FL 28sem: RER (R) dilatado con material intraluminal y ribosomas libres; gránulos secretorios de desigual densidad, mitocondria (M). (x 15.000, barra 1 um).

Fig. 11.15: célula FSH en FC, 8 sem. con RER dilatado y gránulos secretorios.

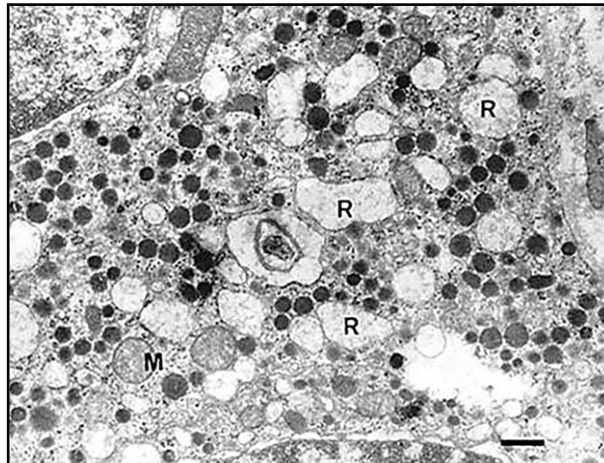


Fig. 11.15. Folículotropa FC 8sem.: RER (R) dilatado, mitocondria (M) y gránulos secretorios. (x 20.000, barra 500nm).

Fig. 11.16: FSH en (FC) 16 sem.: RER dilatado.

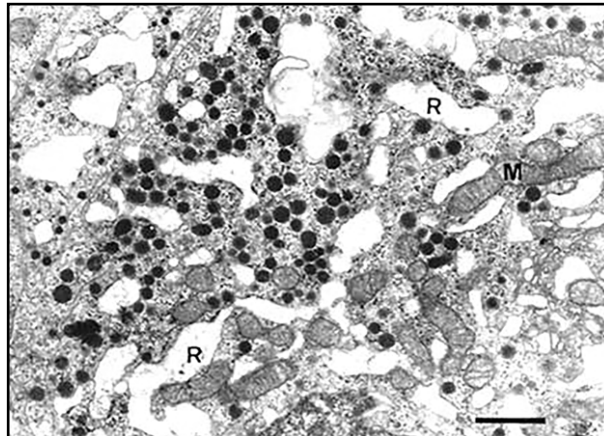


Fig. 11.16. Folículotropa FC 16sem: RER (R) dilatado, mitocondria (M) aislada y regular número de gránulos secretorios (x 19.000, barra 500 nm).

Fig. 11.17: célula FSH en FC 28sem.: RER dilatado, Golgi expandido, lisosomas.

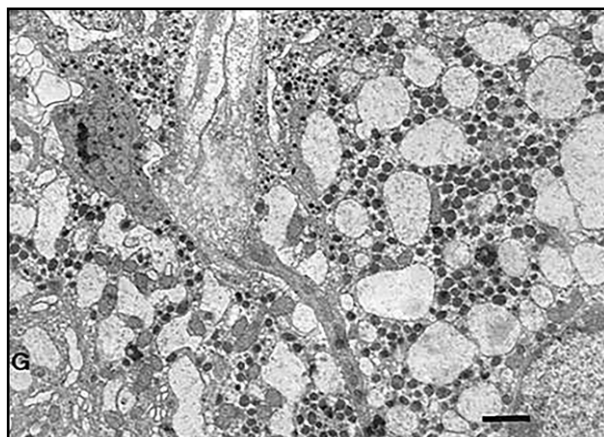


Fig. 11.17. Folículotropa FC 28sem. Se ven dos gonadotropas con RER dilatado, Golgi (G) expandido y algunos lisosomas (x 10.000, barra 1µm).

Hay similitudes con lo comunicado en pituitarias de hámsteres chinos (Deslex y col., 1976) y hámsteres dorados (Girod-Dubois, 1965; Dubois-Girod, 1967).

Hubo descenso ($p < 0.05$) en el número de los perfiles exocíticos (**cuadro 11.3**) (Cónsole y col., 2002b).

Cuadro 11.3. Número de elementos ultraestructurales (x 50 μm^2) en gonadotropas.

Número de elementos	FL				FC			
	8s	16s	22s	28s	8s	16s	22s	28s
Gránulos secretorios	106 \pm 5	111 \pm 5	111 \pm 6	154 \pm 7	123 \pm 6	155 \pm 7	154 \pm 7	134 \pm 5
Mitocondrias	20 \pm 2	18 \pm 2	15 \pm 1.6	16 \pm 2	19 \pm 1	18 \pm 2	15 \pm 1	18 \pm 2
Perfiles exocíticos	5 \pm 0.3	6 \pm 0.4	5 \pm 0.6	6 \pm 0.4	5 \pm 0.2	1.1 \pm 1*	2 \pm 0.1*	7 \pm 0.6

Cada grupo representa el promedio \pm ES, n=4, FL y FC, * $p < 0.05$.

En las semanas 16 y 22 de los animales de FC se registró un descenso del área promedio individual de los gránulos secretorios, al comparar con hámsteres sometidos a FL (**cuadro 11.4**) (Cónsole y col., 2002b).

Cuadro 11.4 Áreas de elementos ultraestructurales en gonadotropas (x 50 μm^2).

Áreas	FL				FC			
	8s	16s	22s	28s	8s	16s	22s	28s
Complejo de Golgi	2 \pm 0.3	2 \pm 0.4	2 \pm 0.3	2 \pm 0.4	2 \pm 0.1	2 \pm 0.3	2.6 \pm 0.4	3 \pm 0.5
RER	8 \pm 2.3	8 \pm 2.1	9 \pm 2.6	10 \pm 2.8	9 \pm 2.3	10 \pm 2.4	10 \pm 2	9 \pm 2
Mitocondrias	3 \pm 0.2	3 \pm 0.3	3 \pm 0.4	4 \pm 0.7	3 \pm 0.2	4 \pm 0.4	3.4 \pm 0.3	4 \pm 0.4
Gránulos secretorios	5 \pm 1.2	5 \pm 1.3	4 \pm 1.5	5 \pm 1.2	4 \pm 1.1	5.5 \pm 1	6 \pm 1.5	5.3 \pm 1
Gránulo Individual	0.05 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.02 \pm 0.01*	0.03 \pm 0.01*	0.04 \pm 0.01

Cada grupo representa el promedio \pm ES, n=4, FL y FC, * $p < 0.05$.

Los niveles circulantes de FSH comenzaron a aumentar a los 3-5 días después de la transferencia de FC a FL. Los niveles de LH no mostraron incrementos hasta varias semanas después.

Estos patrones diferenciales de FSH y LH podrían representar ejemplos de una regulación diferencial de las gonadotropinas *in vivo* (Bernard y col., 2000).

La leptina inhibió el eje reproductivo de hámsteres sirios machos expuestos a FL y FC (Boggio y col., 2013).

El pasaje de los hámsteres dorados machos de FL a FC causó atrofia testicular junto con un descenso significativo en la secreción de LH-FSH y la reducción del metabolismo de la NA a nivel de la eminencia media (Steger y Bartke, 1991).

Los niveles séricos de LH y FSH de los grupos FC estuvieron reducidos ($p < 0.05$) en la semana 16 en los diferentes estadios de los fotoperíodos y comenzaron a recuperarse a las 22 semanas de los FC.

A las 28 semanas los valores se acercaron a los niveles de los hámsteres controles (**fig. 11.18**) (Cónsole y col., 2002b).

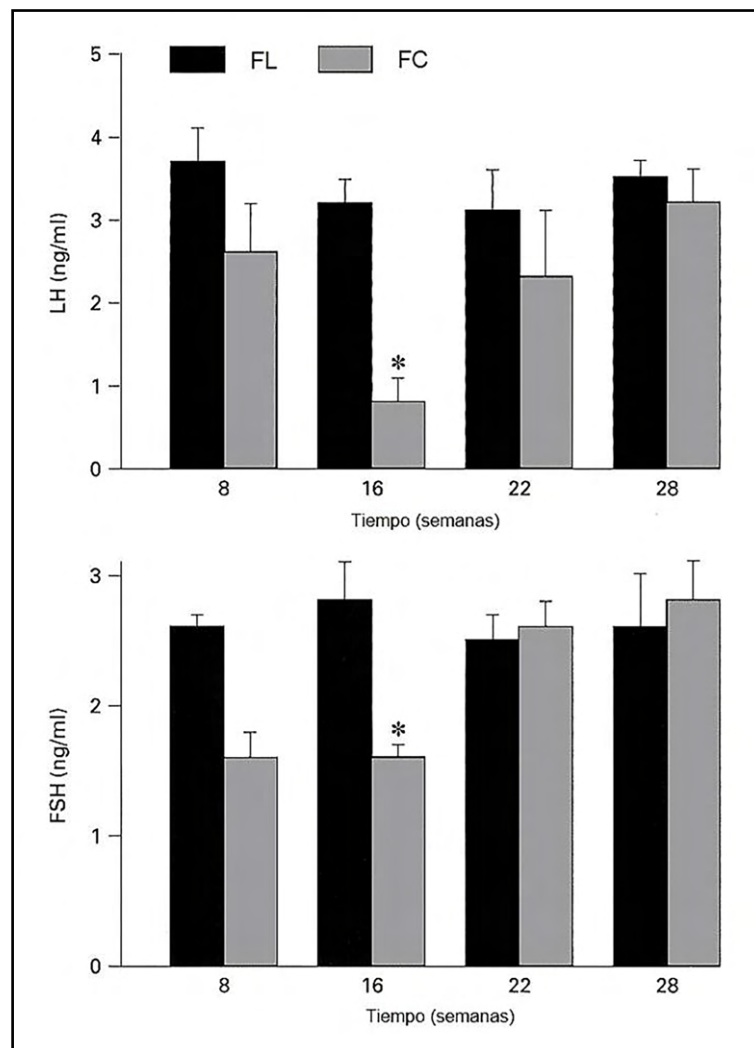


Fig. 11.18. Efecto de los FL y FC sobre los niveles séricos de LH y FSH en hámsteres sometidos a FL Y FC (*p < 0.05).

La recuperación de la actividad gonadal es precedida por cambios que ocurren en el eje hipotálamo-hipofisario (Bartke, 1985) aunque los mecanismos regulatorios deberían clarificarse más. El contenido de la GnRH hipotalámica estuvo ligeramente aumentado o no cambió a través del período de regresión testicular (Pickard y Silverman, 1979; Steger y col., 1982). La liberación de GnRH debería estar inhibida en los FC, mostrando cambios en la síntesis, como se muestra en los estudios IHQ presentados por Urbanski y col. (1991 y 1992). Los neurotransmisores controlan la síntesis hormonal hipofisaria, mientras que la liberación hormonal es regulada por las hormonas hipotalámicas hipofisotróficas. La noradrenalina (NA) es el principal estímulo inductor en la liberación de LH y FSH (Meites y Sonntag., 1981; Kalra y Kalra, 1983). Los valores de NA hipotalámica retornaron a los niveles de FL varias semanas previas a la aparición de la recrudescencia. La exposición a FC llevó a la supresión de la liberación de LH y FSH con una reducción en los pulsos (Reiter, 1980; Bartke, 1985; Steger y col., 1985a; Krey y col., 1989). En hámsteres dorados, el fotoperíodo no afectó el número de neuronas GnRH inmunorreactivas (Shionati, 1985; Ronchi, 1992), pero los animales sometidos a FC presentaron cuerpos neuronales de mayor tamaño (Urbanski, 1991; Korytko y col., 1997; Kriegsfeld y Nelson,

1998). Se han detectado grupos específicos de neuronas GnRH en el área preóptica topográficamente organizada para regular el sistema neuroendocrino reproductivo (Stevenson y col., 2012). La hormona gonadotropina inhibitoria (GnIH) es un neuropéptido hipotalámico descubierto en la codorniz (pájaro fotoperiódico) como factor inhibidor de las gonadotropinas que actúa directamente sobre la pituitaria (Tsutsui y col., 2010a-b y 2013). También ha sido identificada en mamíferos fotoperiódicos y en humanos (Fukusumi y col., 2001).

La *melatonina* actuaría sobre las neuronas GnIH. La integración neuroendocrina de las señales internas y ambientales controla el proceso de la reproducción. El descubrimiento de la GnIH ha cambiado la comprensión del control hipotalámico de la reproducción y parece que la actividad de las neuronas GnIH disminuiría en los FC por acción inhibitoria de la melatonina nocturna en la pineal (Revel y col., 2008; Mason y col., 2010). Hattori y col. (1995) comunicaron que la melatonina inhibe de modo directo la liberación de LHRH. Los mamíferos y las aves, se enfrentan al reto de maximizar el éxito reproductivo ante la menor disponibilidad de los alimentos y las inclemencias climáticas (Bronson, 1989) y el sistema GnIH actuaría como intermediario entre el medio ambiente y el eje reproductivo. En hámsteres sirios las células del neuropéptido Y se proyectan a las células GnIH del hipotálamo dorsomedial, proporcionando una vía neural que se activa cuando hay reducción de los recursos alimentarios (Klingerman y col., 2011).

La longitud del período de luz modula los efectos de los andrógenos sobre la secreción de gonadotropinas. La capacidad de biosíntesis de los andrógenos testiculares estuvo reducida en hámsteres adultos sometidos a FC y los testículos involucionados representaron un estadio fisiológico entre animales prepuberales y adultos activos. La Px disminuyó los receptores LH testiculares en hámsteres expuestos a FL y FC, pero no tuvo efecto sobre los receptores testiculares de PRL. En FC la Px impidió la regresión testicular y descendió el contenido total de receptores LH y PRL. La melatonina disminuyó los niveles de los receptores de PRL a nivel testicular (Amador y col., 1988).

La exposición de los hámsteres dorados a FC resulta en una regresión temprana de los órganos reproductivos con posterior recrudescencia espontánea. Hubo aumento de los niveles de poliaminas testiculares en los FC, con retorno a los niveles normales en la recrudescencia (Frungieri y col., 1996a). Entre 12 y 18 semanas de FC, el contenido del ácido γ -aminobutírico (GABA) y ácido glutámico en las células testiculares se redujo de modo significativo, mientras el GABA aumentó y el ácido glutámico disminuyó durante la involución máxima ($p < 0.05$) (Frungieri y col., 1996b). Las concentraciones muy disminuidas de andrógenos durante la fase involutiva podrían ser el resultado de la ausencia de factores estimuladores pituitarios, asociadas a una regulación negativa de la esteroidogénesis, en respuesta a diferentes señales no-esteroides intra o extratesticulares (Frungieri y col., 1999).

Además, las vizcachas machos (*Lagostomus maximus*) produjeron menos espermatozoides durante la primavera respecto al verano, sugiriendo un efecto estacional sobre la espermatogénesis inducida por el fotoperíodo que promueve cambios significativos en los túbulos seminíferos y en el rendimiento de las células germinales (Godoy Pieri y col., 2014). La expresión testicular de la modulación fotoperiódica en los receptores de membrana de la melatonina (RMT1) nunca ha sido comunicada en el hámster dorado. Mukherjee y Haldar (2014) han sugerido que el fotoperíodo es regulado a través de los niveles circulatorios y locales de la melatonina, así como la expresión de RMT1 en testículos afina la esteroidogénesis y el estado reproductivo del hámster dorado. Un marcapaso circanual mamario sería responsable de la regulación del patrón estacional de PRL en la oveja. Este marcapaso reside en la *pars tuberalis* y expresa receptores de melatonina. Las gonadotropas son controladas indirectamente por las células vecinas, permitiendo actuar como un marcapaso (Hodson et al., 2013).

Los resultados mostraron alteraciones en la liberación, pero no en la síntesis, en correlación con los hallazgos inmunohistoquímicos hipotalámicos (Cónsole y col., 2002). Los cambios en la secreción de hormonas pituitarias fueron precedidos por distorsiones en el metabolismo de los neurotransmisores hipotalámicos en animales sometidos a FC. Estos fotoperíodos regulan la síntesis y liberación de GnRH, endorfina, vasopresina y arginina, las que estimulan la liberación de gonado-

trofinas pituitarias y el desarrollo sexual, que a su vez controlan las hormonas esteroides gonadales (Bittman y col., 1996).

Al pasar de FC a FL, los hámsteres machos estuvieron afectados por un incremento transitorio en la producción de GnRH, con una población estable de neuronas. Cuando aumentó la secreción de GnRH durante los días largos, se halló que el contenido peptídico dentro de los cuerpos neuronales declinó y llevó a un descenso en el número de neuronas inmunorreactivas detectadas (Bernard y col., 1999).

Además, los hámsteres Siberianos mostraron que la menor frecuencia de los pulsos de GnRH facilitó la liberación de la FSH, mientras que la mayor frecuencia de pulsos liberó a favor de la LH (Meredith y col., 1998).

En síntesis, los estudios inmunohistoquímicos, ultraestructurales y séricos en el eje gonadotropo se correlacionaron, mostrando ajustes en la transferencia de FL a FC y en la posterior recrudescencia espontánea.

Referencias

- Amador AG et al. Effects of pinealectomy and melatonin or 5-methoxytryptamine on testicular LH and PRL receptors in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Rev Esp Fisiol* 44(1):81-86, 1988.
- Badura LL, Goldman BD. Anterior pituitary release of prolactin is inhibited by exposure to short photoperiod. *J Neuroendocrinol* 9(5):341-345, 1997.
- Bartke A, Croft BT, Dalterio S. Prolactin restores plasma testosterone levels and stimulates testicular growth in hamsters exposed to short day-length. *Endocrinology* 97(6):1601-04, 1975.
- Bartke A ET AL. Effects of prolactin on testicular regression and recrudescence in the golden hamster. *Endocrinology* 106(1):167-172, 1980.
- Bartke A. Male hamster reproductive endocrinology. The hamster. In: H.I. Siegel, ed. Plenum, New York, 1985:73-98.
- Benson B, Matthews MJ. Possible role of prolactin and pineal prolactin-regulating substances in pineal-mediated gonadal atrophy in hamster. *Horm Res* 12(3):137-148, 1980.
- Bernard DJ, Abuav-Nussbaum R, Horton TH, Turek FW. Photoperiodic effects on gonadotropin-releasing hormone (GnRH) content and the GnRH-immunoreactive neuronal system of male Siberian hamsters. *Biol Reprod* 60(2):272-276, 1999.
- Bernard DJ ET AL. Differential regulation of pituitary gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid levels in photo-stimulated Siberian hamsters. *Biol Reprod* 62(1):155-161, 2000.
- Berndtson WE, Desjardins C. Circulating LH and FSH levels and testicular function in hamsters during light deprivation and subsequent photoperiod stimulation. *Endocrinology* 95(1):195-205, 1974.
- Bex FJ, Bartke A, Goldman BD, Dalterio S. Prolactin, growth hormone, luteinizing hormone receptors, and seasonal changes in testicular activity in the golden hamster. *Endocrinology* 103(6):2069-80, 1978.
- Bex FJ, Bartke A. Testicular LH binding in the hamster: modification by photoperiod and prolactin. *Endocrinology* 100(4):1223-26, 1977.
- Bittman EL ET AL. Effects of photoperiod and androgen 271(1Pt2): R64-72, 1996.
- Blask DE, Leadem CA, Orstead KM, Larsen BR. Prolactin cell activity in female and male Syrian hamsters: an apparent sexually dimorphic response to light deprivation and pinealectomy. *Neuroendocrinology* 42(1):15-20, 1986a.
- Blask FJ, Orstead KM. Dopamine inhibition of prolactin release but not synthesis in the male Syrian hamster: in vitro studies. *Life Sci* 38(21):1915-21, 1986b.
- Boggio V et al. Leptin inhibits the reproductive axis in adult male Syrian hamsters exposed to long and short photoperiod. *Reprod Biol* 13(3):203-208, 2013.
- Borer KT, Kelch RP, Corley K. Hamster prolactin: physiological changes in blood and pituitary concentrations as measured by a homologous radioimmunoassay. *Neuroendocrinology* 35(1):13-21, 1982.
- Bosler O et al. Mechanisms of structural plasticity associated with photic synchronization of the circadian clock within the suprachiasmatic nucleus. *J Soc Biol* 203(1):49-63, 2009.
- Bronson FH. *Mammalian Reproductive Biology*. In: Chicago: University of Chicago Press, 1989.
- Chandrashekar V, Bartke A. The influence of short photoperiod on testicular and circulating levels of testosterone precursors in the adult golden hamster. *Biol Reprod* 40(2):300-306, 1989.
- Cónsole GM, Jurado SB, Camihort G, Calandra RS, Zitta K, Gómez Dumm CL. Morphological and biochemical changes of pituitary gonadotropes in male golden hamsters submitted to short and long photoperiods. *Cell Tissues Organs* 171(2-3):177-187, 2002a.
- Cónsole GM, Jurado SB, Petruccelli M, Carino M, Calandra RS, Gómez Dumm CL. Influence of photoinhibition on the morphology and function of pituitary lactotropes in male golden hamsters. *Neuroendocrinology* 75(5):316-325, 2002b.
- Dardente H, Hazlerigg DG, Ebling FJ. Thyroid hormone and seasonal rhythmicity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5:19, 2014.

- Desjardins C, Ewing LG, Johnson BH. Effects of light deprivation upon the spermatogenic and steroidogenic elements of hamster testes. *Endocrinology* 89(3):791-800, 1971.
- Deslex P, Rossi GL, Probst D. Ultrastructural study of the adeno-hypophysis of the Chinese hamster. *Acta Anat (Basel)* 96(1):35-54, 1976.
- Frungieri MB, Gonzalez-Calvar SI, Bartke A, Calandra RS. Influence of age and photoperiod on steroidogenic function of the testis in the golden hamster. *Int J Androl* 22(4):243-252, 1999.
- Frungieri MB, Gonzalez-Calvar SI, Calandra RS. Influence of photoinhibition on GABA and glutamic acid levels, and on glutamate decarboxylase activity in the testis and epididymis of the golden hamster. *Int J Androl* 19(3):171-178, 1996a.
- Frungieri MB, Gonzalez-Calvar SI, Calandra RS. Polyamine levels in testes and seminal vesicles from adult golden hamsters during gonadal regression-recrudescence. *J Androl* 17(6):683-691, 1996b.
- Girod C, Dubois P. Ultrastructural study of the gonadotropic cells of anterior pituitary the golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterh.). *J Ultrastruct Res* 13(1):212-232, 1965.
- Glickman T et al. Photic sensitivity for circadian response to light varies with photoperiod. *J Biol Rhythms* 27(4):308-318, 2012.
- Gogoy Pieri NC et al. Seasonal variations cause morphological changes and altered spermatogenesis in the testes of vizcacha (*Lagostomus maximus*). *Anim Reprod* 149(3-4):316-324, 2014.
- Hattori A et al. Melatonin inhibits luteinizing hormone releasing (LHRH) induction of LH release from fetal rat pituitary cells. *Neurosci Lett* 184(2):109-112, 1995.
- Hazlerigg DG, Lincoln GA. Hypothesis: cyclical histogenesis is the basis of circannual timing. *J Biol Rhythms* 26(6):471-485, 2011.
- Hazlerigg DG. The evolutionary physiology of photoperiodism in vertebrates. *Prog Brain Res* 199:413-422, 2012.
- Hodson DJ et al. Cells co-expressing luteinizing hormone and thyroid-stimulating hormone are present in the ovine pituitary pars distalis but not the pars tuberalis: implications for the control of endogenous circannual rhythms of prolactin. *Neuroendocrinology* 97(4):355-362, 2013.
- Ikeno T, Weil ZM, Nelson RJ. Photoperiod affects the diurnal rhythm of hippocampal neuronal morphology of Siberian hamsters. *Chronobiol Int* 30(9):1089-1100, 2013.
- Kirsz K, Zieba DA. A review on effect of the photoperiod and melatonin on interactions between ghrelin and serotonin. *Gen Comp Endocrinol* 179(2):248-253, 2012.
- Korytko AI, Dluzen DE, Blank JL. Photoperiod and steroid-dependent adjustments in hypothalamic gonadotropic hormone-releasing hormone, dopamine, and norepinephrine content in male deer mice. *Biol Reprod* 56(3):617-624, 1997.
- Krey LC, Ronchi E, Bittman EL. Effects of daylength on androgen metabolism and pulsatile luteinizing hormone secretion in male golden hamsters. *Neuroendocrinology* 50(5):533-542, 1989.
- Kriegsfeld LJ, Nelson RJ. The GnRH neuronal system of male prairie voles (*Microtus ochrogaster*) that vary in reproductive response to photoperiod. *Soc Res Biol Rhythms Abstr* 6: 58, 1998.
- Kuenzel WJ, Kang SW, Zhou ZJ. Exploring avian deep-brain photoreceptors and their role in activating the neuroendocrine regulation of gonadal development. *Poult Sci* 94(4):786-798, 2015.
- Leadem CA et al. Possible involvement of the hypothalamic dopaminergic system in the prolactin-inhibitory effects of the pineal gland in blind-anosmic male rats. *Neuroendocrinology* 48(1):1-7, 1988.
- Lincoln GA et al. Clock genes and long-term regulation of prolactin secretion: evidence for a photoperiod/circannual timer in the pars tuberalis. *J Neuroendocrinol* 15(4):390-397, 2003.
- Lincoln GA. Melatonin modulation of prolactin and gonadotrophin secretion. Systems ancient and modern. *Adv Exp Med Biol* 460:137-153, 1999.
- Malpoux B, Thiery JC, Chemineau P. Melatonin and seasonal control of reproduction. *Reprod Nutr Dev* 39(3):355-366, 1999.
- Maronde E et al. Transcription factor dynamics in pineal gland and liver of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) adapts to prevailing photoperiod. *J Pineal Res* 43(1):16-24, 2007.

- Mason AO et al. Photoperiod and reproductive condition are associated with changes in RFamide-related peptide (RFRP) expression in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *J Biol Rhythms* 25(3):176-185, 2010.
- Massa JS, Blask DE. An early pineal-induced suppression of pituitary prolactin mRNA levels in light-deprived male hamsters. *Neuroendocrinology* 50(5):506-512, 1989.
- Meredith JM et al. Effects of gonadotropin-releasing hormone pulse frequency modulation on the reproductive axis of photoinhibited male Siberian hamsters. *Biol Reprod* 59(4):813-819, 1998.
- Merks T et al. Photoperiod-dependent changes in exocytotic activity in the hypophyseal pars tuberalis of the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus*. *Cell Tissue Res* 273(2):287-291, 1993.
- Mukherjee A, Haldar C. Photoperiodic regulation of melatonin membrane receptor (MT1R) expression and steroidogenesis in testis of adult golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J Photochem Photobiol B* 140C:374-380, 2014.
- Muraro NI, Pirez N, Ceriani MF. The circadian system: plasticity at many levels. *Neuroscience* 247:280-293, 2013.
- Nakane Y, Yoshimura T. Universality and diversity in the signal transduction pathway that regulates seasonal reproduction in vertebrates. *Front Neurosci* 8:115, 2014.
- Orstead KM, Blask DE. Neuroendocrine effects of light deprivation and pinealectomy in vivo on the time course of changes in prolactin cell activity in vitro. *Neuroendocrinology* 45(3):182-190, 1987.
- Pickard GE, Silverman AJ. Effects of photoperiod on hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone in the male hamster. *J Endocrinol* 83(3):421-428, 1979.
- Piekarski DJ et al. Effects of pinealectomy and short day lengths on reproduction and neuronal RFRP-3, kisspeptin and GnRH in female Turkish hamsters. *J Biol Rhythms* 29(3):181-191, 2014.
- Piezzi RS et al. Biological role of the pineal. Response to the environmental photoperiod. *Arch Biol Med Exp (Santiago)* 17(3-4):273-282, 1984.
- Rani S, Kumar V. Photoperiodic regulation of seasonal reproduction in higher vertebrates. *Indian J Exp Biol* 52(5):413-419, 2014.
- Reiter RJ, Johnson LY. Depressant action of the pineal gland on pituitary luteinizing hormone and prolactin in male hamsters. *Horm Res* 5(5):311-320, 1974.
- Reiter RJ. Neuroendocrine effects of light. *Int J Biometeorol* 35(3):169-175, 1991.
- Ronchi E, Krey L, Pfaff DW. Steady state analysis of hypothalamic GnRH mRNA levels in male Syrian hamsters: influences of photoperiod and androgen. *Neuroendocrinology* 55(2):146-155, 1992.
- Sáenz de Miera C et al. A circannual clock drives expression of genes central for seasonal reproduction. *Curr Biol* 24(13):1500-1506, 2014.
- Shiotani Y et al. Changes in the pineal gland, LH-RH neuron system and pituitary gonadal axis in golden hamsters under artificial winter conditions. *Biomed Res* 6:297-305, 1985.
- Steger RW et al. Effects of short photoperiod on the ability of golden hamster pituitaries to secrete prolactin and gonadotropins in vitro. *Biol Reprod* 29(4):872-878, 1983.
- Steger RW, Bartke A, Goldman BD. Alterations in neuroendocrine function during photoperiod induced testicular atrophy and recrudescence in the golden hamster. *Biol Reprod* 26(3):437-444, 1982.
- Steger RW, Bartke A. Temporal sequence of neuroendocrine events associated with the transfer of male golden hamsters from stimulatory to a nonstimulatory photoperiod. *Biol Reprod* 44(1):76-82, 1991.
- Steger RW et al. Photoperiod effects on neurohypophyseal and tuberoinfundibular dopamine metabolism in male hamster. *Endocrinology* 136(7):3000-06, 1995.
- Steger RW et al. Neuroendocrine regulation of seasonal reproductive activity in the male golden hamster. *Neurosci Biobehav Rev* 9(2):191-201, 1985a.
- Steger RW et al. Interactions of photoperiod and ectopic pituitary grafts on hypothalamic and pituitary function in male hamsters. *Neuroendocrinology* 41(2):89-96, 1985b.
- Stirland JA et al. Photoperiodic regulation of prolactin gene expression in the Syrian hamster by a pars tuberalis-derived factor. *J Neuroendocrinol* 13(2):147-157, 2001.

- Tsutsui K et al. Review: regulatory mechanisms of gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) synthesis and release in photoperiodic animals. *Front Neurosci* 7:60, 2013.
- Turek FW et al. Effect of prolonged exposure to nonstimulatory photoperiods on the activity of the neuroendocrine-testicular axis of golden hamsters. *Biol Reprod* 13(4):475-481, 1975.
- Urbanski HF, Doan A, Pierce M. Immunocytochemical investigation of luteinizing hormone-releasing hormone neurons in Syrian hamsters maintained under long or short days. *Biol Reprod* 44(4):687-692, 1991.
- Vidal L, Morin LP. Absence of normal photic integration in the circadian visual system: response to millisecond light flashes. *J Neurosci* 27(13):3375-82, 2007.
- Wang SM, Liu CH, Lin HS. An immunocytochemical study of effects of light deprivation on prolactin cells in the adenohypophysis of the golden hamster. *Histol Histopathol* 6(3):287-293, 1991.
- Wang SM et al. Effects of light deprivation on prolactin cells in the adenohypophysis of golden hamsters: an immunoelectron microscopic study. *Histol Histopathol* 7(2):307-313, 1992.
- Yasuo S, Korf HW. The hypophysial pars tuberalis transduces photoperiodic signals via multiple pathways and messenger molecules. *Gen Comp Endocrinol* 172(1):15-22, 2011.
- Wood S, Loudon A. Clocks for all seasons: unwinding the roles and mechanisms of circadian timers in hypothalamus and pituitary. *J Endocrinol* 222(2): R39-59, 2014.
- Zhang XY et al. Effects of short photoperiod on energy intake, thermogenesis, and reproduction in desert hamsters (*Phodopus roborovskii*). *Integr Zool* 10(2):207-215, 2015.

CAPÍTULO 12

EJE TIMO - PITUITARIO

12.1 Sistema inmuno-neuro-endocrino

Los *sistemas inmune, nervioso y endocrino* se integran en los mamíferos para constituir una red homeostática. Se documentaron asociaciones entre hipófisis, tiroides, adrenales, gónadas y timo (Fabris y col., 1989). La mayor influencia madurativa entre timo y sistema neuroendocrino se hace en el período perinatal de la vida. El sistema inmune reconoce moléculas extrañas a través de las células presentadoras de antígenos, activa las subpoblaciones de linfocitos y muestra respuesta humoral y celular para mantener la homeostasis del organismo. En estudios tempranos se demostró que en las especies con timectomía (Tx) neonatal no se alteró la capacidad inmune (Solomon, 1971).

El eje neuroendocrino ejerce influencia sobre la fisiología del timo en la vida adulta por acción directa de las hormonas adenohipofisarias o periféricas, actuando sobre las células epiteliales tímicas (CET) y/o sobre las células intratímicas inmaduras (Savino y Dardenne, 2000; Reggiani y col., 2009a). No hay evidencia directa de la existencia de factores hipotalámicos capaces de afectar la síntesis de timulina por acción sobre las CET. Sin embargo, se ha documentado que el tratamiento con extractos hipotalámicos de ratones jóvenes a ratones viejos determinó la reaparición de niveles detectables de timulina sérica (Folch y col., 1986). Los extractos pituitarios o hipotalámicos de ratones jóvenes indujeron secreción de timulina en las líneas de CET y este efecto declinó cuando dichos extractos provinieron de ratones envejecidos (Goya y col., 1995).

En contrapartida, la glándula tímica es clave para una adecuada maduración del eje neuroendocrino y son conocidas las alteraciones endocrinas inducidas por la ausencia congénita del timo o la Tx neonatal. Se ha comunicado que los ratones congénitamente atímicos (*nude*) hembras redujeron los niveles de gonadotrofinas circulantes y pituitarios, deficiencia que se ha relacionado con los desarreglos reproductivos descritos en estos mutantes (Rebar y col., 1981a-b). Las hormonas tímicas afectan a la hipófisis (Pierpaoli y col., 1976) y la hipótesis de que el timo ejerce un efecto hipofisotrófico se sustenta en una cantidad significativa de resultados. La timulina estimuló la secreción de LH en pituitarias perfundidas (Brown y col., 2000) y de ACTH mediante adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y guanósín monofosfato cíclico (GMPC) en fragmentos pituitarios incubados (Hadley y col., 1997). Se conoce que la hormona tímica moduló la actividad estimuladora de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), con secreción de LH y FSH, a partir de las células pituitarias de ratas hembras en diferentes días del ciclo estral (Hinojosa y col., 2004). La timulina también estimuló la secreción de TSH, PRL, GH, FSH y LH en las células pituitarias dispersas en dosis de 10^{-8} a 10^{-3} M (Brown y col., 1998; 1999 y 2000).

Las hormonas hipofisarias modulan la actividad funcional de las células linfoides (Fabris y col., 1971) y la **timulina** produce:

- a. Activación de LT citotóxicos, colaboradores y supresores.
- b. Proliferación de LT y
- c. Síntesis de IgG-anti-ADN, IgA, IgG e interleuquina 2 (IL-2) (Charreire y Bach, 1975; Bach, 1983). Además, la timulina tiene un efecto analgésico y antiinflamatorio (Safieh-Garabedian y col., 1997; 2000; 2003 y 2011; Reggiani y col., 2009a; 2014), actuando a través de las interleuquinas y las prostaglandinas.

El timo presenta su máximo desarrollo después del nacimiento hasta la pubertad y luego involucre con una progresiva disminución del parénquima tímico, descenso de los linfocitos corticales e infiltración adiposa. Ello determina la declinación de la inmunidad mediada por células y la menor actividad tímica en los adultos está asociada con una inmunodeficiencia selectiva que se manifiesta en neoplasias, enfermedades infecciosas y autoinmunes, con un deterioro de uno o más subtipos de linfocitos T (Oates y col., 1989).

Un caso severo de deficiencia tímica es el síndrome DiGeorge causado por una malformación congénita con hipoplasia o ausencia de timo y paratiroides en los neonatos. La malformación es debida a fallas en las bolsas faríngeas (tercera y cuarta) y en el primer arco branquial. Los pacientes con síndrome DiGeorge presentan susceptibilidad aumentada a las infecciones, hipoparatiroidismo congénito, malformación bucal, oídos de implantación baja, hipoplasia tiroidea y anomalías cardíacas.

Las **células endocrinas tímicas (CET)** representan el componente endocrino del timo ya que sintetizan y liberan interleuquinas y péptidos bioactivos denominados **hormonas tímicas**: timosina ($\alpha 1$), factor tímico humoral $\gamma 2$ (FTH $\gamma 2$), timopoyetina, hormona tímica homeostática y timulina. Se sintetizó un péptido que mostró una actividad biológica idéntica al factor tímico sérico (FTS) natural (Bach y col., 1977) y, sin embargo, en preparaciones fortuitas de FTS sintéticos inactivos se sugirió la existencia de dos formas del péptido, una bioactiva y otra inactiva. De hecho, la incubación del péptido con agentes quelantes resultó en la pérdida de su actividad. Además, mediante estudios de microanálisis se identificaron gránulos densos de Zn⁺² dentro de las vacuolas citoplasmáticas en los cultivos de CET, sugiriendo la interacción con el FTS (Dardenne y col., 1982). El complejo activo formado por FTS-Zn fue denominado **timulina (cuadro 12.1)**.

Cuadro 12.1 Péptidos tímicos

PÉPTIDO TÍMICOS	ACCIONES PRINCIPALES
TIMOSINA- $\alpha 1$	Induce la expresión de antígenos Thy 1-2. Incrementa la respuesta mitogénica de los linfocitos. Estimula la producción de anticuerpos y linfoquinas. Modula la expresión de la deoxinucleotidiltransferasa.
FACTOR TÍMICO HUMORAL $\gamma 2$ (TFH- $\gamma 2$)	Otorga reactividad a poblaciones de L no competentes. Aumenta la proliferación de LT y la IL-2 esplénica.
TIMPOYETINA	Promueve varias de las funciones de los LT.
TIMULINA (FTS-Zn)	Inmunoestimuladora. Prolifera LT y diferencia a LT colaboradores y citotóxicos.

La timulina es producida por las CET (Dardenne y col., 1974) y consiste en un nonapéptido inactivo denominado factor tímico sérico (FTS) acoplado en una relación equimolecular con el ion zinc (Gastinel y col., 1984) que da actividad biológica a la molécula (Dardenne y col., 1982). La forma activa tiene una conformación molecular específica que ha sido registrada mediante resonancia nuclear magnética (Cung y col., 1988) (**fig. 12.1**).

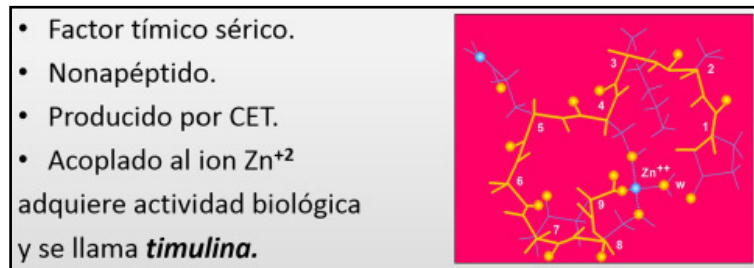


Fig. 12.1. Molécula de timulina.

La actividad biológica de la timulina puede ser evaluada mediante un bioensayo formador de rosetas a partir de glóbulos rojos de oveja y que fuera desarrollado por Bach y col. (1975). En la **fig. 12.2** se muestra la regulación de su secreción.

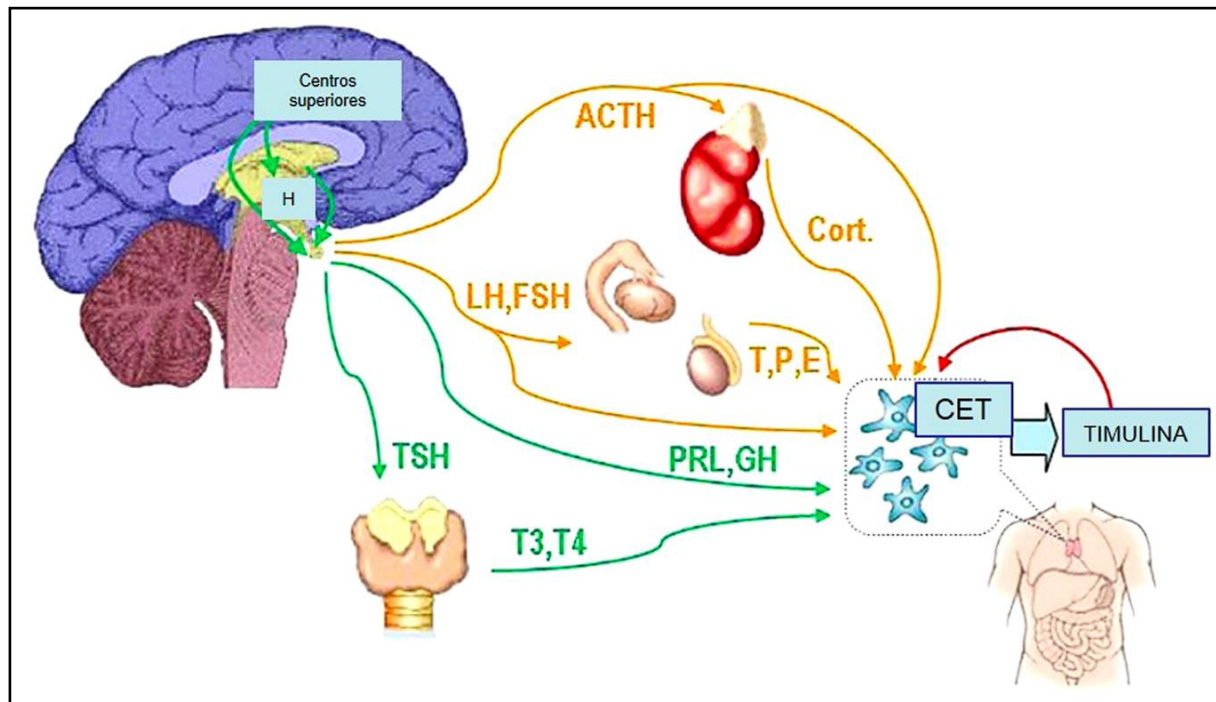


Fig. 12.2. Control de la secreción de timulina.

La timulina posee actividad hipofisotrófica y ejerce una retroalimentación negativa. Las hormonas: dexametasona (Cort.), progesterona (P), testosterona (T), estradiol (E), PRL, GH y T3-T4 regulan su secreción. CET: células epiteliales tímicas (Reggiani, 2009c).

12.2 Eje timo-pituitario

El timo interviene en la maduración sexual durante el período perinatal. Es de remarcar que durante este período transcurren pasos decisivos del desarrollo y de la programación de ciertas funciones neuroendocrinas en el cerebro (Harris y Levine, 1965; Pierpaoli y Besedovsky, 1975).

Se halla afectado por la **timectomía (Tx) neonatal** (Michael y col., 1980), la **inmunoneutralización** (Camihort y col., 2006) o la **ausencia congénita de timo** (Rebar y col., 1981a y 1982).

12.2.1 Eje timo-gonadotropo

El timo participa en la organización de los centros nerviosos que intervienen en la maduración sexual y la ciclicidad en las hembras (Pierpaoli y col., 1976). En experimentos *in vivo* en ratones heterocigotas y *nude*, se ha observado que la administración de extractos tímicos y de FTS pudo inducir una disminución en la concentración de la hormona liberadora de LH (LHRH) y un aumento variable en los niveles de gonadotrofinas hipofisarias (Strich y col., 1985).

En el estudio la atimia congénita indujo una significativa ($p < 0.05$) reducción en el número de neuronas hipotalámicas productoras de GnRH que ha sido restaurada mediante terapia génica neonatal con timulina. La densidad de axones de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) producidos por las neuronas en la eminencia media y su vecindad fue similar en animales atímicos tratados mediante terapia con timulina, respecto a los controles heterocigotas (Reggiani y col., 2009b).

En estudios *in vitro*, la adición de timulina a fragmentos hipofisarios obtenidos de ratas machos adultas indujo una estimulación en las gonadotrofinas de manera dosis y edad dependiente (Zaidi y col., 1988; Mendoza y Romano, 1989; Hinojosa y col., 1999; Brown y col., 2000).

Se ha establecido que la timulina regularía la liberación de gonadotrofinas durante el ciclo estral de la rata, ya que tendría un efecto estimulador sobre la liberación de LH durante todo el ciclo y de FSH durante el diestro 1, pero sería inhibitorio durante el estro. Además, se observó una relación directamente proporcional entre los niveles de progesterona y el efecto de la timulina sobre la liberación de FSH, siendo factible que la progesterona actúe regulando la reactividad de las células hipofisarias a la timulina. Estos resultados sugirieron que la influencia de dicho péptido tímico depende del estado hormonal de los donantes de las pituitarias (Hinojosa y col., 2004).

A nivel ovárico, los ratones *nude* mostraron al nacer un número normal de ovocitos, pero a los 2 meses de vida hubo un marcado descenso del número de folículos y se incrementó la atresia folicular. Además, se ha observado en estos animales una fertilidad reducida y una falla prematura de la función ovárica (Besedovsky y Sorkin, 1974; Rebar y col., 1981a-b).

Los ovarios de los ratones *nude* fueron aptos para responder normalmente a la administración exógena de LH (Pierpaoli y Besedovsky, 1975) y esto sugeriría que la anomalía ocasionada por la atimia se presentaría a nivel hipotálamo-hipofisario.

En experimentos *in vivo*, se ha observado que la administración de timulina previa al tratamiento con gonadotrofina corónica equina (eCG) indujo un incremento en el peso ovárico y en la tasa de ovulación, efecto que depende de la dosis del metalopéptido y de la edad de los ratones (Hinojosa y col., 1999).

En la hembra, la timulina interviene en la función esteroideogénica ovárica, incrementando la actividad de la aromataasa. Además, se observó que los ovarios responden a la timulina mediante un incremento de las gonadotrofinas y de la progesterona (Ledwitz-Rigby y Scheid, 1991).

Las hembras *nude* homocigotas exhibieron un significativo retraso en la edad de la apertura vaginal y la terapia génica neonatal (TGN) con timulina previno significativamente este retraso. Sin embargo, la edad de apertura vaginal en *nude* atímicos tratados con RAd-FTS mostró un ligero retraso, respecto a ratones controles heterocigotas. Las hembras *nude* heterocigotas de nuestro estudio tuvieron ovarios con folículos en todos los estadios y cuerpos lúteos, mientras los *nude* controles homocigotas hembras mostraron anomalías ováricas múltiples, caracterizadas por un número reducido de folículos antrales (secundarios y terciarios) y cuerpos lúteos, así como un incremento de los folículos atrésicos, comparados con sus contrapartes normales.

La TGN con timulina previno la incidencia de alteraciones ováricas en hembras *nude* homocigotas. Los ovarios de ratones *nude* tratados mostraron un buen número de folículos desarrollados, cuerpos lúteos y folículos atrésicos, comparables con los controles heterocigotas (Reggiani y col., 2012b).

Se ha demostrado que la timulina inyectada i.v. en cerdos incrementó las concentraciones circulantes de testosterona. Estos resultados apoyarían la hipótesis de que la timulina aumentaría el efecto estimulador de la LH sobre el incremento de los andrógenos *in vitro* e *in vivo* en los testículos de ratas y cerdos (Wise, 1998; Wise y Ford, 1999).

Además, en mujeres con aplasia tímica se demostró la presencia de ovarios alterados (Dunn y col., 1964). Los niveles circulantes de estrógeno y progesterona en adultos *nude* homocigotas hembras estuvieron descendidos respecto a sus contrapartes heterocigotas (Pierpaoli y Besedovsky, 1975), mientras que los ratones hembras normales con Tx de 10 días mostraron menores niveles de estrógenos, respecto a sus contrapartes intactas (Alten y Groscurth, 1975).

En nuestros controles homocigotas hembras hemos hallado una significativa reducción del estradiol sérico sin cambios en los niveles de progesterona. La TGN con timulina fue parcialmente capaz de prevenir los bajos niveles de estrógenos en homocigotas *nude*, mientras el tratamiento no tuvo efecto significativo en los niveles de progesterona. El efecto preventivo parcial de la TGN con timulina sugiere la función endocrina del timo, contribuyendo a la maduración del sistema reproductivo (Reggiani y col., 2012b).

El estudio inmunohistoquímico de la TGN con timulina (grupos: RAd-GFP y RAd-FTS: heterocigotas y homocigotas) muestra un aumento del número de folículotropas y de su tamaño celular (**fig. 12.3**).

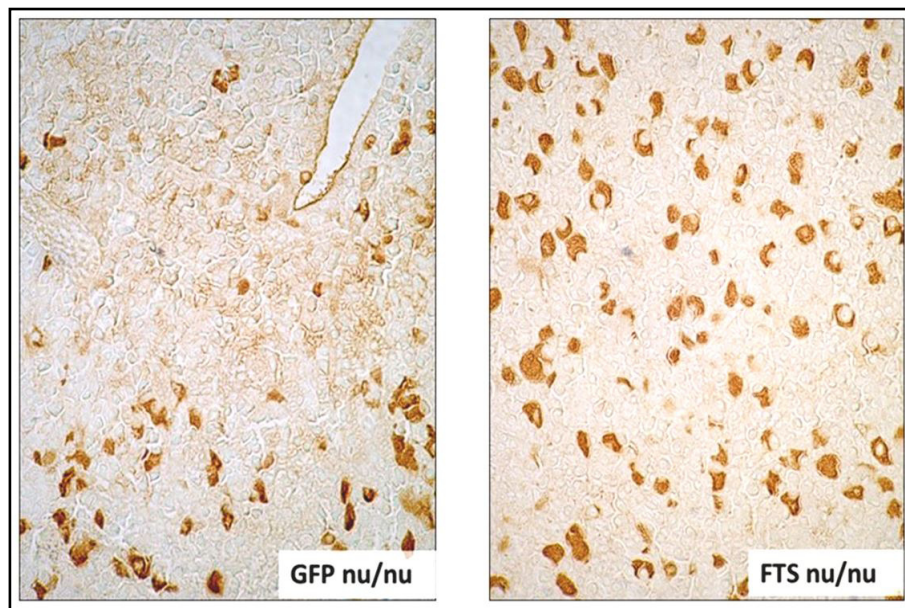


Fig. 12.3 Población folículotropa. RAd-GFP y RAd-FTS. (EnVision peroxidasa, anti-FSH, x 400).

El análisis morfométrico de la población folículo­tropa muestra un aumento en el tamaño celular (TC) ($p < 0.01$ - $p < 0.05$), en la densidad de volumen (DV) ($p < 0.05$) y en densidad de células (DC) ($p < 0.01$ - $p < 0.05$) en ratones *nude* atímicos de ambos sexos cuando se compara con las contrapartes heterocigotas (fig. 12.4).

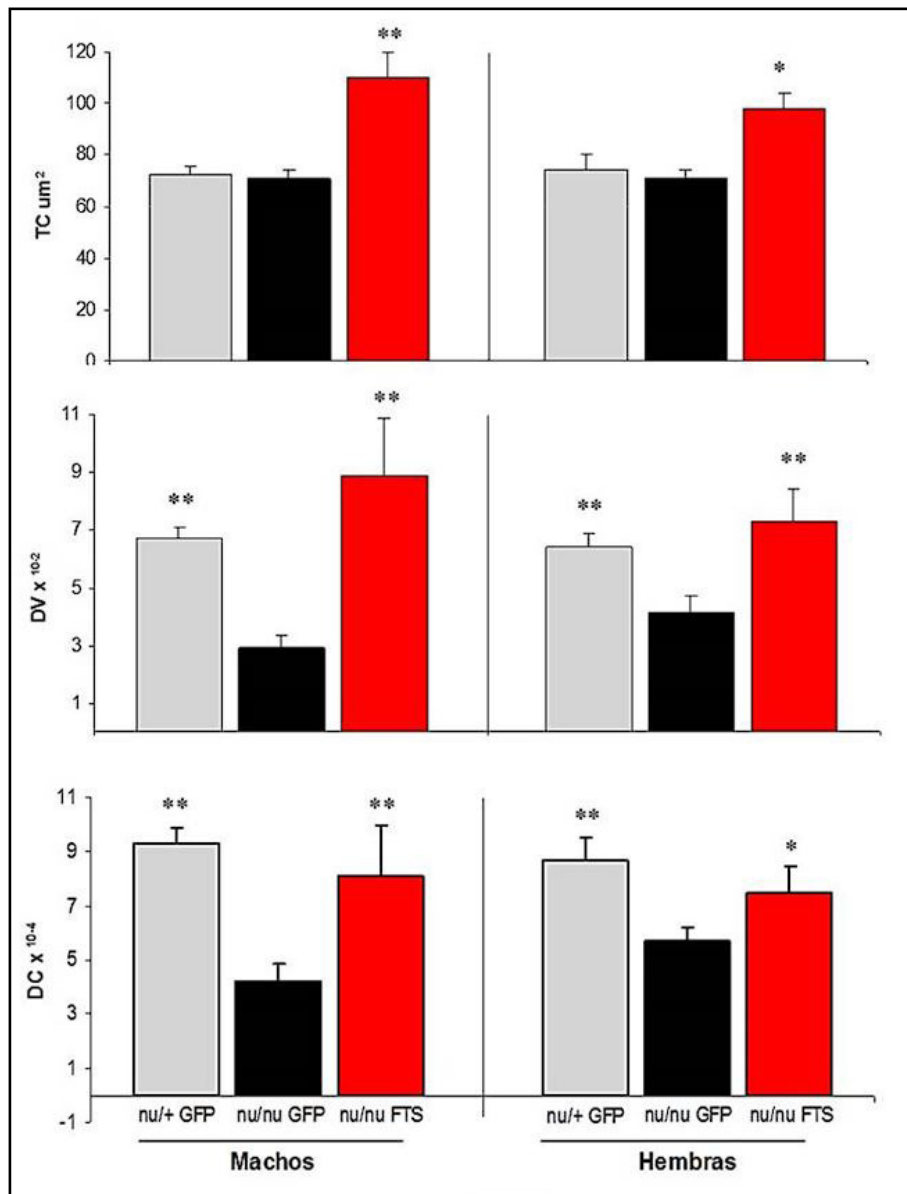


Fig. 12.4 Morfometría de la población folículo­tropa.

Tamaño celular (TC), densidad de volumen (DV), densidad de células (DC): nu/+ GFP, nu/nu GFP y nu/nu FTS, ** $p < 0.01$ - * $p < 0.05$.

En la **fig. 12.5** se observa un aumento del número de células luteinizantes, con mayor tamaño celular y en la **fig. 12.6** se muestra la morfometría en la población luteinizante. Se registra un aumento ($p < 0.01$ - $p < 0.05$) en la DC, DV y TC en ratones atímicos *nude* de ambos sexos cuando se compara con las contrapartes heterocigotas.

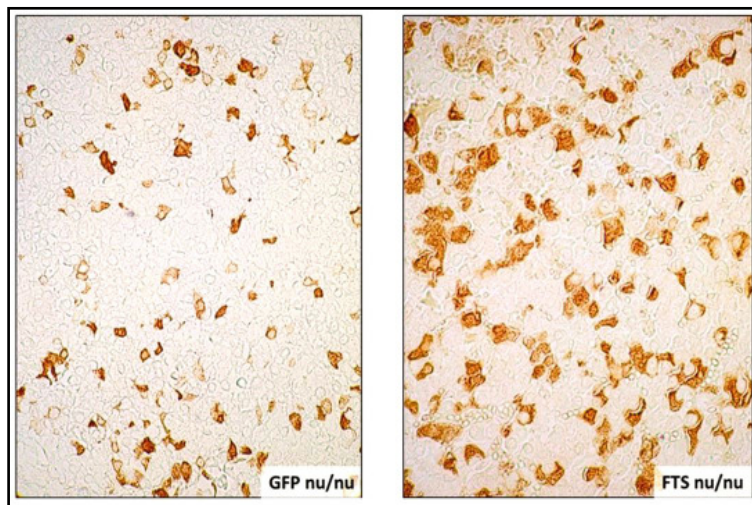


Fig. 12.5 Población luteinizante. RAD-GFP y RAD-FTS. (EnVision peroxidasa, anti-LH, x 400).

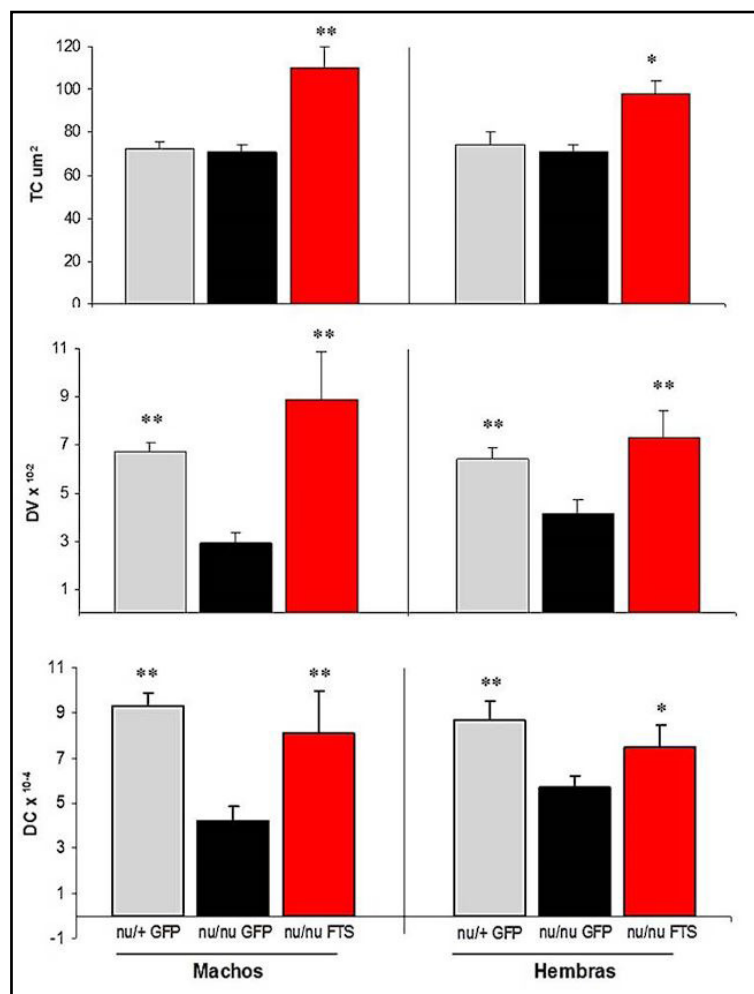


Fig. 12.6 Morfometría de la población luteinizante.

Tamaño celular (TC), densidad de volumen (DV), densidad de células (DC): nu/+ GFP, nu/nu GFP y nu/nu FTS, ** $p < 0.01$ - * $p < 0.05$.

La TGN con timulina en ratones atímicos restaura los niveles séricos de las gonadotrofinas ($p < 0.05$ - $p < 0.01$) de los mutantes luego de la pubertad (**fig. 12.7**).

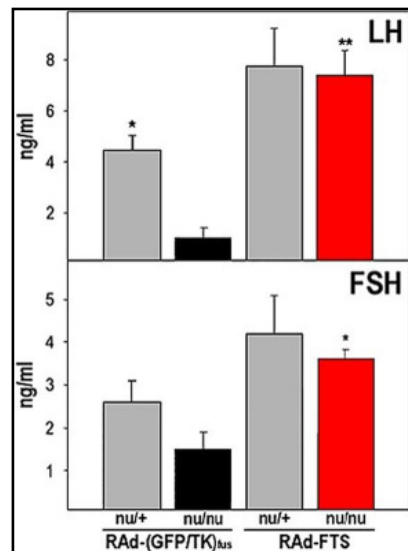


Fig. 12.7 Efectos de la TGN con timulina sobre los niveles séricos de LH-FSH (ng/ml) en ratones *nude* (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

Por todo lo expuesto, la timulina juega un rol fisiológico relevante en el eje timo-pituitario-gonadal (Goya y col., 2007; Reggiani y col., 2012b).

12.2.2 Eje timo-lactotropo

Se observó que la presencia del timo es requerida para una normal secreción de PRL y, a la inversa, la PRL es necesaria para la generación de células T (Pierpaoli y col., 1970). Se han identificado los receptores para PRL en las CET (Dardenne y col., 1981) y se ha visto que la PRL es capaz de estimular la síntesis y secreción de timulina, *in vitro* en las CET e *in vivo* en ratones viejos que poseían bajos niveles de timulina sérica (Dardenne y col., 1989). En un modelo de hiperprolactinemia experimental se observó un incremento de los niveles de timulina en animales jóvenes y viejos (Savino y Dardenne, 2000). Se le ha otorgado a la PRL un rol importante en la función de los LT (Hadden, 1992; Pierpaoli y col., 1976). Se sugirió que la PRL, a través de células productoras de IL-1, actuaría sobre las CET, promoviendo su proliferación con aumento de timulina (Hadden, 1992). En nuestra inmunomarcación se ve aumento significativo del tamaño celular y no significativo del número de lactotropas, por lo que la TGN con RAd-FTS previno las alteraciones morfológicas de los ratones *nude* jóvenes (**fig. 12.8**) (Martines y col., 2013).

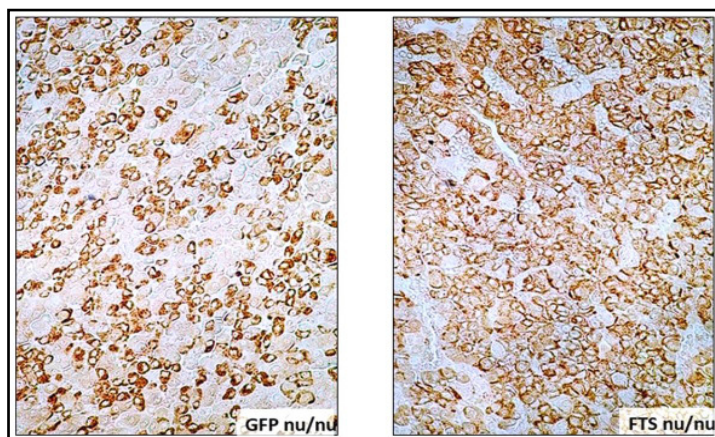


Fig. 12.8 Población lactotropa. RAd-GFP y RAd-FTS. (EnVision peroxidasa, anti-PRL, x 400).

Los ratones *nude* sometidos a TGN muestran aumento significativo ($p < 0.01-0.05$) de TC y DV, con aumento no significativo de DC en lactotropas de ratones inyectados con RAD-FTS vs. GFP (fig. 12.9).

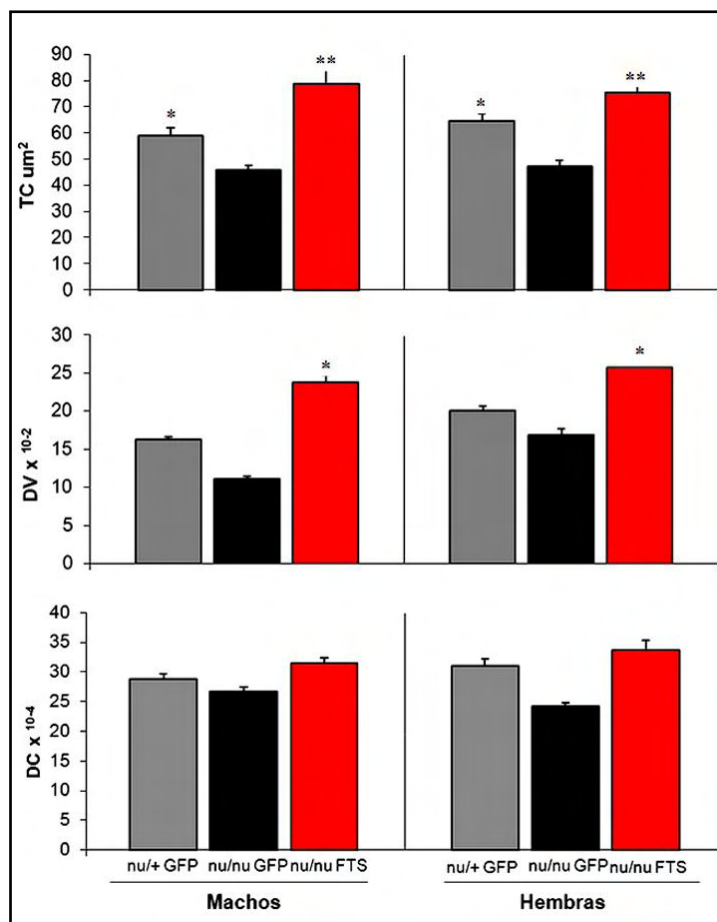


Fig. 12.9 Morfometría de la población lactotropa.

Tamaño celular (TC), densidad de volumen (DV), densidad de células (DC): nu/+ GFP, nu/nu GFP y nu/nu FTS, ** $p < 0.01$ - * $p < 0.05$.

12.2.3 Eje timo-somatotropo

Se ha observado que las fluctuaciones en los niveles de la GH modularían la síntesis y la secreción de la timulina.

En perros viejos tratados con la GH bovina se observó una restauración parcial de los bajos niveles de timulina (Goff y col., 1987).

En ratones viejos, el tratamiento con GH ovina incrementó sus bajos niveles de timulina (Goya y col., 1992) y en ratas viejas, el tratamiento combinado de GH y T_4 fue capaz de restaurar parcialmente los bajos niveles de timulina (Goya y col., 1993).

La hipofisectomía en ratas condujo a una intensa, aunque transitoria, disminución de los niveles séricos de timulina.

En estudios clínicos, los niños con producción deficiente de GH congénita presentaron bajos niveles de timulina sérica y cuando se los trató con GH se logró su restauración a valores normales, los cuales se correlacionaron con las cantidades de IGF-I circulantes (Mocchegiani y col., 1990b y 1996).

La GH humana recombinante estimuló la liberación de timulina a partir de las CET con receptores para dicha hormona (Ban y col., 1991). Los pacientes acromegálicos mostraron elevados niveles de la timulina sérica que se correlacionaron con niveles elevados de IGF-I, respecto a controles sanos y se observó que el efecto de la GH podía ser bloqueado con el agregado de anticuerpos contra IGF-I y contra el receptor de IGF-I, lo que ha llevado a postularlo como un posible mediador de los efectos de la GH sobre las CET (Timsit y col., 1992).

La inmunomarcación de las somatotropas muestra en la TGN con Rad-FTS un aumento del número de células y ligero incremento del tamaño celular, por lo que podemos sugerir que previno las alteraciones morfológicas detectadas en los ratones homocigotas *nude* (fig. 12.10) (Reggiani y col., 2012a).

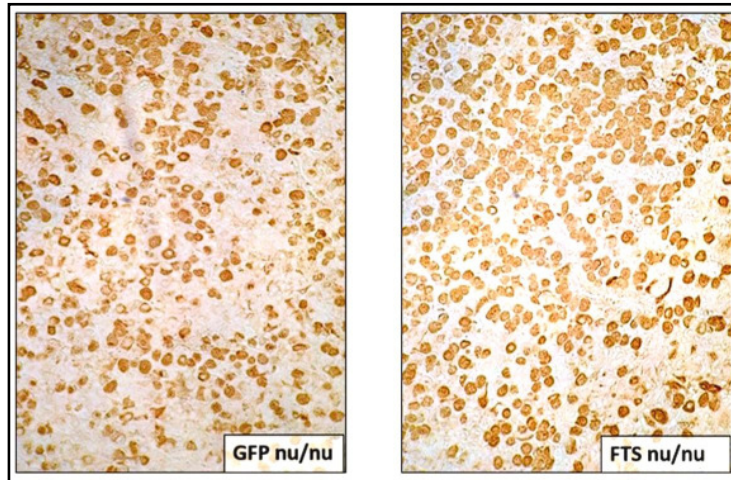


Fig. 12.10 Población somatotropa. RAD-GFP y RAD-FTS. (EnVision peroxidasa, anti-GH, x 400).

Los ratones *nude* sometidos a TGN muestran un aumento significativo ($p < 0.01- 0.05$) de la DC y de la DV y un ligero aumento no significativo del TC en la población somatotropa de ratones inyectados con Rad-FTS, respecto a los animales inyectados con el vector control (Rad-GFP) (Fig. 12.11).

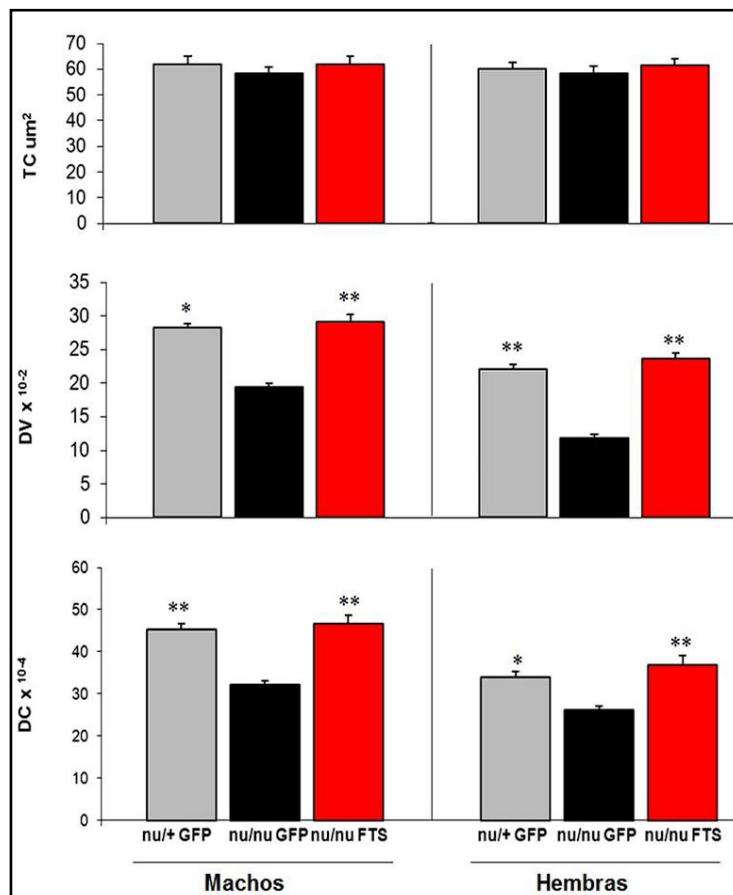


Fig. 12.11 Morfometría de la población somatotropa. Tamaño celular (TC), densidad de volumen (DV), densidad de células (DC): nu/+ GFP, nu/nu GFP y nu/nu FTS, ** $p < 0.01$ - * $p < 0.05$.

12.2.4 Eje timo-corticotropo

Se han hecho contribuciones al estudio de la conexión entre el timo y el eje adrenal que muestran que los corticoides afectan el tamaño y la histología tímica.

Los factores hipotalámicos serían capaces de influir en la producción de la timulina mediante una acción directa sobre la actividad endocrina de las CET. En efecto, se ha observado que el tratamiento i.p. de ratones seniles con extractos hipotalámicos provenientes de ratones jóvenes corrigió el déficit de los niveles de la timulina sérica (Folch y col., 1986).

Se ha observado que la timulina estimuló la liberación de ACTH en fragmentos hipofisarios incubados de rata por una acumulación intracelular de AMPc y GMPc (Hadley y col., 1997) y que tal incremento fue dosis dependiente (Buckingham y col., 1992). La Tx neonatal en ratones normales desarrolló una inmunodeficiencia severa y alteraciones degenerativas en las glándulas adrenales que pudieron ser prevenidas mediante injertos tímicos neonatales (Pierpaoli y Sorkin, 1972).

Una preparación tímica bovina estimuló la secreción en las células corticotropas (Farah y col., 1987). Un aumento en la liberación de ACTH, por ejemplo, en el pico del ciclo circadiano o durante una cirugía, coincidió con un aumento de la liberación de timulina (Safieh-Garabedian y col., 1992).

La adrenalectomía (Ax) en animales provocó una hiperplasia tímica (Fisher, 1964) y de manera inversa, la Tx disminuyó los niveles de ACTH/corticosterona sérica en ratas recién nacidas (Deschaux y col., 1979) y de ACTH/ β -endorfinas en monos jóvenes (Healy y col., 1983). La Ax en machos y hembras, produjo una disminución transitoria de los niveles de timulina sérica, mientras que la Ax junto con la gonadectomía, produjo una disminución más prolongada (3 a 6 meses) de la timulina sérica (Dardenne y col., 1986). La terapia de reemplazo con extractos tímicos en animales Tx no sólo restauró la función inmune, sino que también normalizó los niveles de ACTH y corticosterona (Deschaux y col., 1979). Hubo un aumento de la concentración de timulina en los sobrenadantes celulares cuando los cultivos de CET se expusieron a niveles fisiológicos de glucocorticoides, estradiol, progesterona o testosterona (Savino y col., 1988).

En la **fig. 12.12** se observan corticotropas inmunomarcadas que corresponden a los campos representativos de la histometría realizada y puede verse el aumento del número y de su tamaño celular (Martines y col., 2011b).

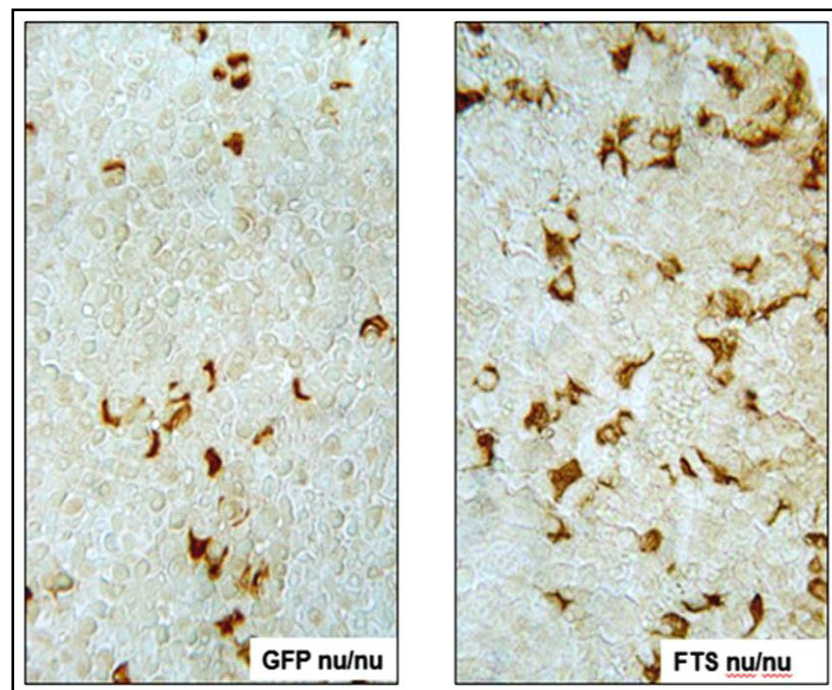


Fig. 12.12 Población corticotropa.

RAAd-GFP y RAAd-FTS (EnVision peroxidasa, anti-ACTH, x 400).

La población corticotropa muestra un aumento en DC ($p < 0.05$), TC ($p < 0.01$) y DV ($p < 0.01$) de la población corticotropa en ratones *nu/nu* de ambos sexos, respecto a los animales inyectados con vector control (fig. 12.13) (Martines y col., 2011b).

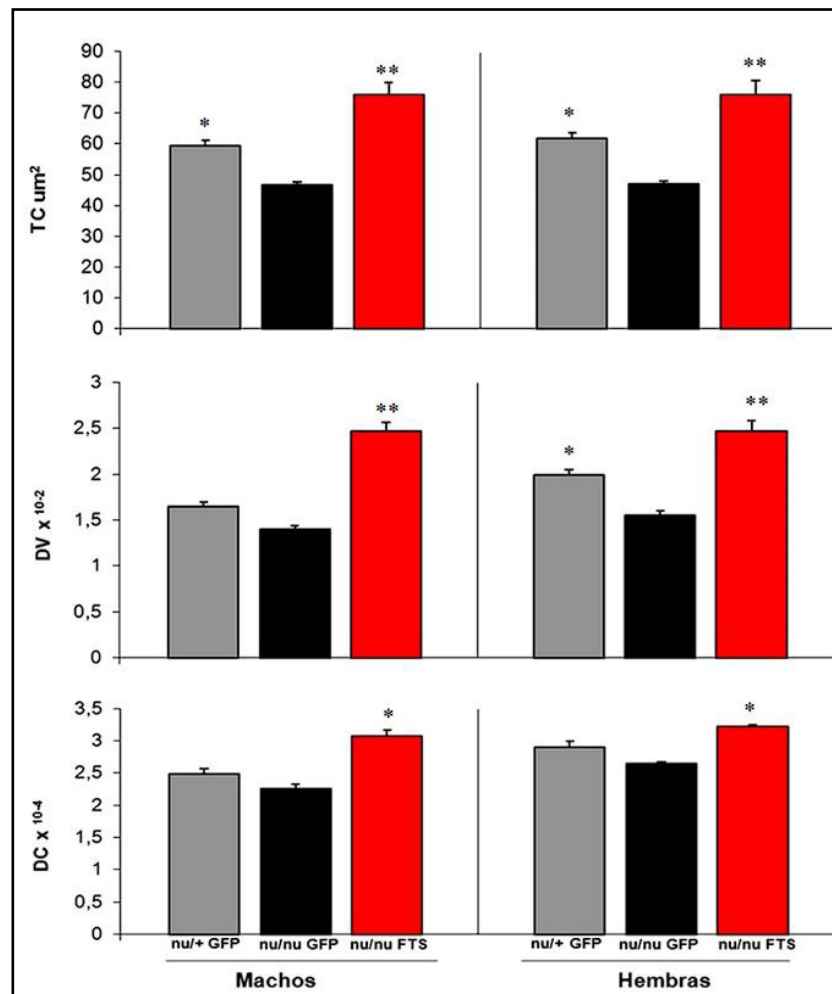


Fig. 12.13 Población corticotropa. RAd-GFP y RAd-FTS (EnVision peroxidasa, anti-ACTH, x 400).

Los resultados sugieren que la atimia congénita puede tener un impacto marginal sobre la morfología y el número de corticotropas, así como sobre el contenido del CRH hipotalámico y de la corticosterona adrenal.

Es de interés remarcar que la TGN determinó un incremento en el número y tamaño de las corticotropas en ratones *nude* heterocigotas y homocigotas. Este aumento concuerda con la actividad de la timulina *in vitro* como liberadora de ACTH (Hadley et al., 1997), en el estrés inducido y en la respuesta pituitaria *in vitro* a la CRH que fue significativamente menor en *nude* Swiss, respecto a ratones controles (Daneva et al., 1995; Gaillard et al., 1998).

12.2.5 Eje timo-tirotrópo

Hay evidencias de la existencia de una interrelación bidireccional entre la glándula tímica y el eje tiroideo. La tiroidectomía en rata causó reducción tímica y una marcada inmunodepresión (Fabris, 1973).

Se ha comunicado que en los ratones machos *nude* CD-1, la TSH y tiroxina respondieron al estrés por inmovilización y frío con una menor respuesta y bajos niveles séricos basales de dichas hormonas (Goya y col., 1995).

La timulina estimuló la liberación de la TSH en las células pituitarias a dosis de 10^{-8} a 10^{-3} M y este efecto estimulador de la timulina declinó con la edad, sugiriendo que el envejecimiento lleva a una desensibilización de la glándula pituitaria a las señales tímicas (Brown y col., 1998).

Se ha documentado que la administración de timosina y hormona homeostática tímica inhibieron la secreción de tirotrófina en ratas jóvenes, pero no en animales viejos (Goya y col., 1987).

Las hormonas tiroideas también modularon la secreción de timulina y se ha detectado que el tratamiento *in vivo* con T_3 , indujo en CET de ratones y ratas jóvenes un incremento en los niveles de timulina sérica y en el número de células que contienen timulina. El efecto opuesto pudo evidenciarse con la administración de un inhibidor de la síntesis de hormonas tiroideas: el tiouracilo (Savino y col., 1984).

Los pacientes con hipertiroidismo exhibieron niveles elevados de la timulina en suero y los portadores de hipotiroidismo mostraron niveles disminuidos de la timulina sérica (Fabris y col., 1986).

En estudios *in vitro*, se observó que las hormonas tiroideas estimularon la secreción de timulina por una acción directa sobre las CET (Mocchegiani y col., 1990a; Villa-Verde y col., 1993).

Además, se ha documentado que en animales viejos que presentaron niveles bajos de timulina sérica, el tratamiento con T_4 pudo revertir esta deficiencia (Fabris y col., 1989; Villa-Verde y col., 1993).

Las tirotrópas inmunomarcadas presentan un patrón citoplasmático granular (fig. 12.14). Los campos representativos de la histometría realizada pueden verse en la **fig. 12.15**, que muestra un aumento del número de células y de su tamaño celular (Martines y col., 2011a).

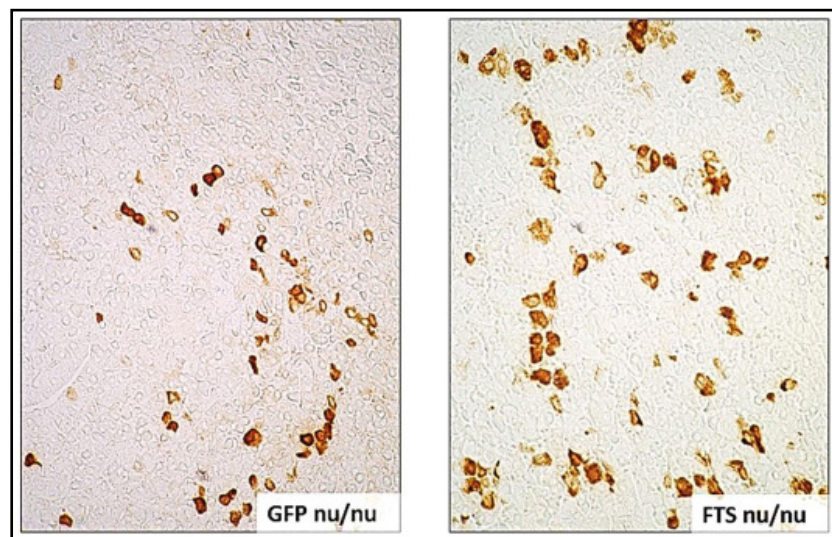


Fig. 12.14 Población tirotrópa. RAd-GFP y RAd-FTS (Envision peroxidasa, anti-TSH, x 400).

La morfometría de la TGN con timulina registra un aumento de la DC, el TC y la DV ($p < 0.01-0.05$) de la población corticotropa en ratones *nu/nu* de ambos sexos respecto a los ratones inyectados con vector control (**fig. 12.15**) (Martines y col., 2011a).

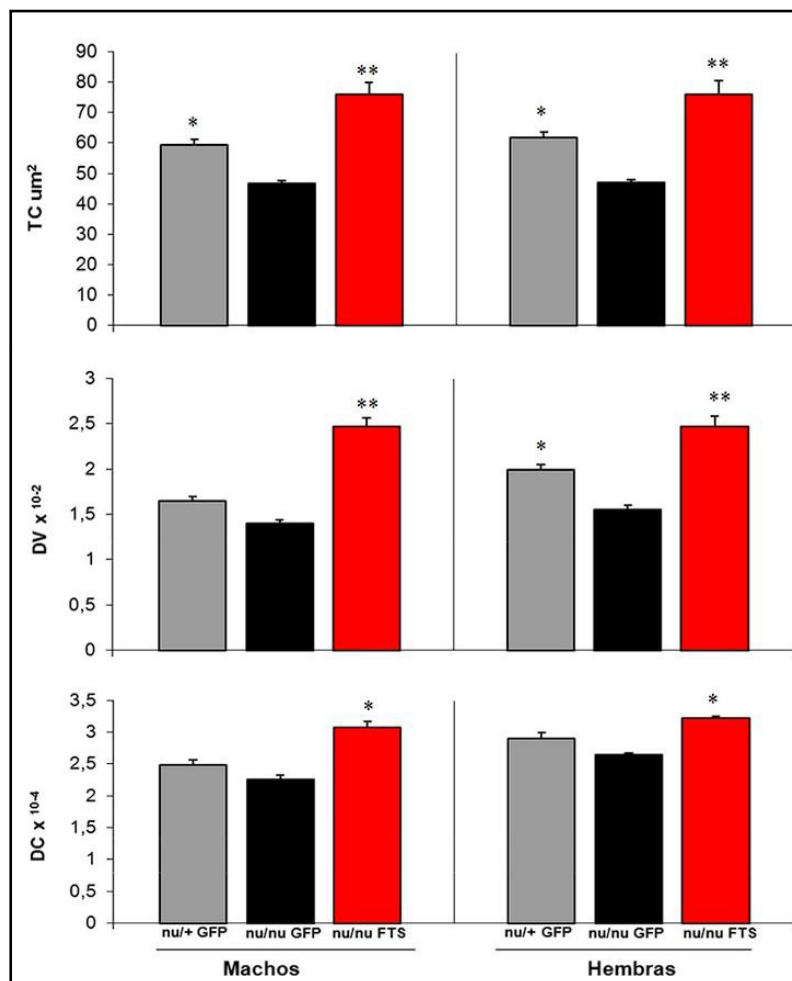


Fig. 12.15 Morfometría de la población tirotrópica. Tamaño celular (TC), densidad de volumen (DV), densidad de células (DC): *nu/+ GFP*, *nu/nu GFP* y *nu/nu FTS*, ** $p < 0.01$ - * $p < 0.05$.

En la **fig. 12.16** se observa el efecto del Rad-FTS sobre los niveles séricos de timulina en ratones *nude* homo y heterocigotas de ambos sexos.

La administración i.m. del vector RAd-FTS a ratas indujo niveles suprafisiológicos de timulina bioactiva que permanecieron 112 días en ratones y 320 días en ratas (Reggiani y col., 2006; Morel y col., 2008).

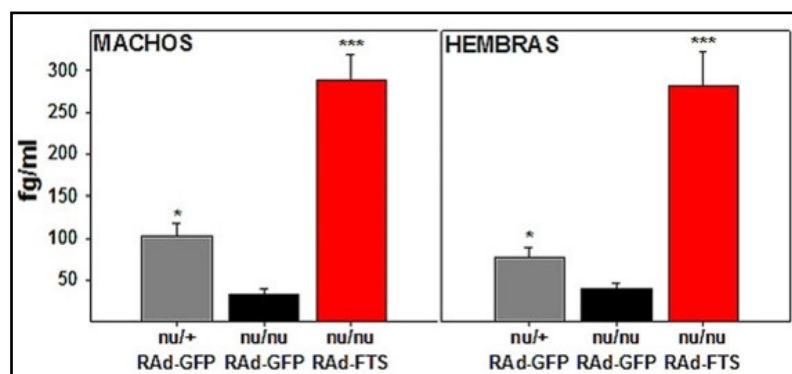


Fig. 12.16 Efecto de la TGN con timulina sobre los niveles séricos de timulina en ratones *nude* homo y heterocigotas de ambos sexos. Valores de la timulina sérica (fg/ml) expresada como media \pm ES, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

12.3 Timectomía (Tx) neonatal

La Tx en ratones recién nacidos y hasta los 35 días de edad interfirió con el desarrollo de la capacidad inmunológica de las células provenientes de los nódulos linfáticos ganglionares y esplénicos (Dalmaso y col., 1964).

La Tx desarrolló alteraciones degenerativas en las glándulas tiroideas y adrenales, con modificaciones en la población somatotropa pituitaria (Pierpaoli y col., 1971; Pierpaoli y Sorkin, 1972) y en los niveles séricos de GH, LH y FSH, sin alterar los niveles de PRL (Michael y col., 1980).

En la Tx neonatal de ratones hembras normales (Nishizuka y Sakakura, 1971; Michael y col., 1980) se observan efectos similares a los descritos en las hembras *nude* homocigotas: retardo en la apertura vaginal y en la primera ovulación (Besedovsky y Sorkin, 1974), fertilidad reducida con bajos niveles de gonadotrofinas circulantes (Rebar et al., 1981a) y aumento de la atresia folicular con una insuficiencia ovárica prematura (Lintern-Moore y Pantelouris, 1975).

Se realizaron estudios en ratones Tx a los días 2-4 de vida y se halló una ventana temporal madurativa en la cual interviene el timo. La disfunción ovárica determinó una pérdida de ovocitos, un aumento de la infiltración linfocitaria y una hipertrofia-hiperplasia de las células intersticiales, con descenso del número de folículos y cuerpos lúteos. Estas alteraciones fueron evidenciadas a los 25 días de edad, haciéndose marcadas a los 2-3 meses de vida. Sin embargo, cuando la Tx se realizó después de los 7 días de vida no se observaron cambios en el desarrollo ovárico, mientras que la Tx antes de los 2 días edad provocaba la muerte de los animales (Nishizuka y Sakakura, 1969 y 1971; Michael y col., 1980).

Además, se ha observado que la Tx fetal en primates indujo una anormal diferenciación ovárica y una disminución en el tamaño de los ovarios con inhibición de la ovogénesis (Healy y col., 1985) y la Tx en ratones de 10 días de vida indujo un retraso en la pubertad, una disminución del número de folículos totales y de los niveles séricos de 17β estradiol (Hinojosa y col., 1999).

La administración de timulina a ratones Tx adelantó el día de apertura vaginal y produjo un incremento de los niveles séricos de 17β estradiol. Cuando los animales fueron tratados previamente con gonadotrofinas se observó un incremento en el número de ovocitos, en el 17β estradiol sérico y en el peso del útero (García y col., 2000).

La Tx promovió mayor tumorigénesis ovárica durante el envejecimiento (Michael y col., 1981).

La **terapia génica neonatal (TGN)** con adenovirus recombinante portador del factor tímico sérico (RAd-FTS) en ratas adultas (9 meses) Tx registró niveles suprafisiológicos de timulina durante 400 días y en ratas Tx inyectadas con el RAd- β gal (vector control) no se vieron niveles de timulina sérica detectables (Reggiani y col., 2006) (**fig 12.17**).

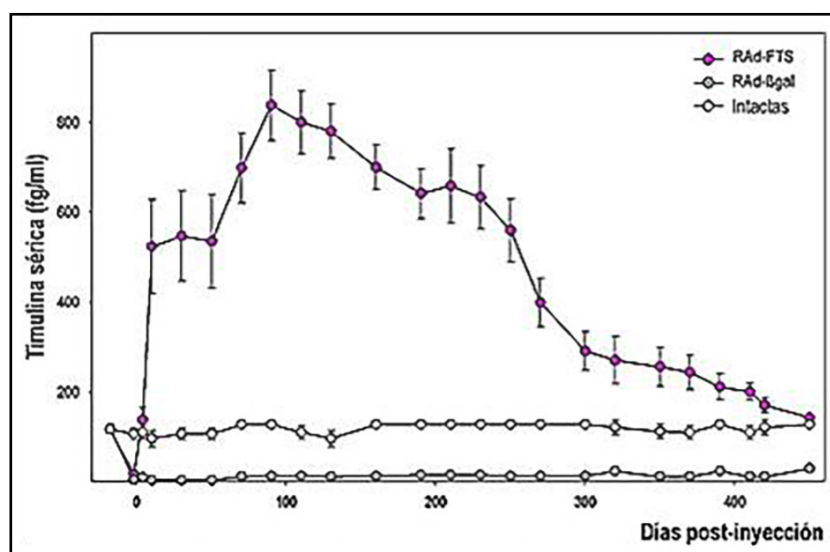


Fig. 12.17 Expresión de timulina sérica en ratas Tx (Reggiani y col., 2006). Intactas (círculos claros), RAd- β gal (círculos grises) y RAd-FTS (círculos rosas).

12.4 Inmunoneutralización de la timulina.

La inmunoneutralización de la hormona se hizo en ratones mediante un anticuerpo anti-timulina (α FTS), desde el nacimiento hasta la pubertad (Camihort y col., 2006).

En la **fig. 12.18** se muestra la morfometría adenohipofisaria de los animales machos y hembras sometidos a inmunoneutralización de la timulina sérica (FTS), respecto a controles (NRS).

La población lactotropa mostró un descenso significativo ($p < 0.01$) en la densidad de células (DC) y en la densidad de volumen (DV), sin cambios en el tamaño celular (TC) en hembras y machos del grupo inmunizado con anti- α -FTS, comparados con los controles (NRS).

La población somatotropa presentó un descenso significativo ($p < 0.01$) en la DC y un incremento ($p < 0.01$) en el TC en ambos sexos del grupo α -FTS respecto a controles (NRS).

La población gonadotropa (células LH-FSH) mostró un aumento ($p < 0.01$) en la DV y en el TC cuando los machos y hembras α -FTS se compararon con sus contrapartes NRS. En la población tirotrona los valores de DC y TC fueron mayores ($p < 0.01$) en los machos α -FTS, respecto a los controles (NRS) machos.

La población corticotropa exhibió un significativo ($p < 0.01$) descenso en la DC y un incremento ($p < 0.01$) en el TC en machos α -FTS, en comparación con machos NRS.

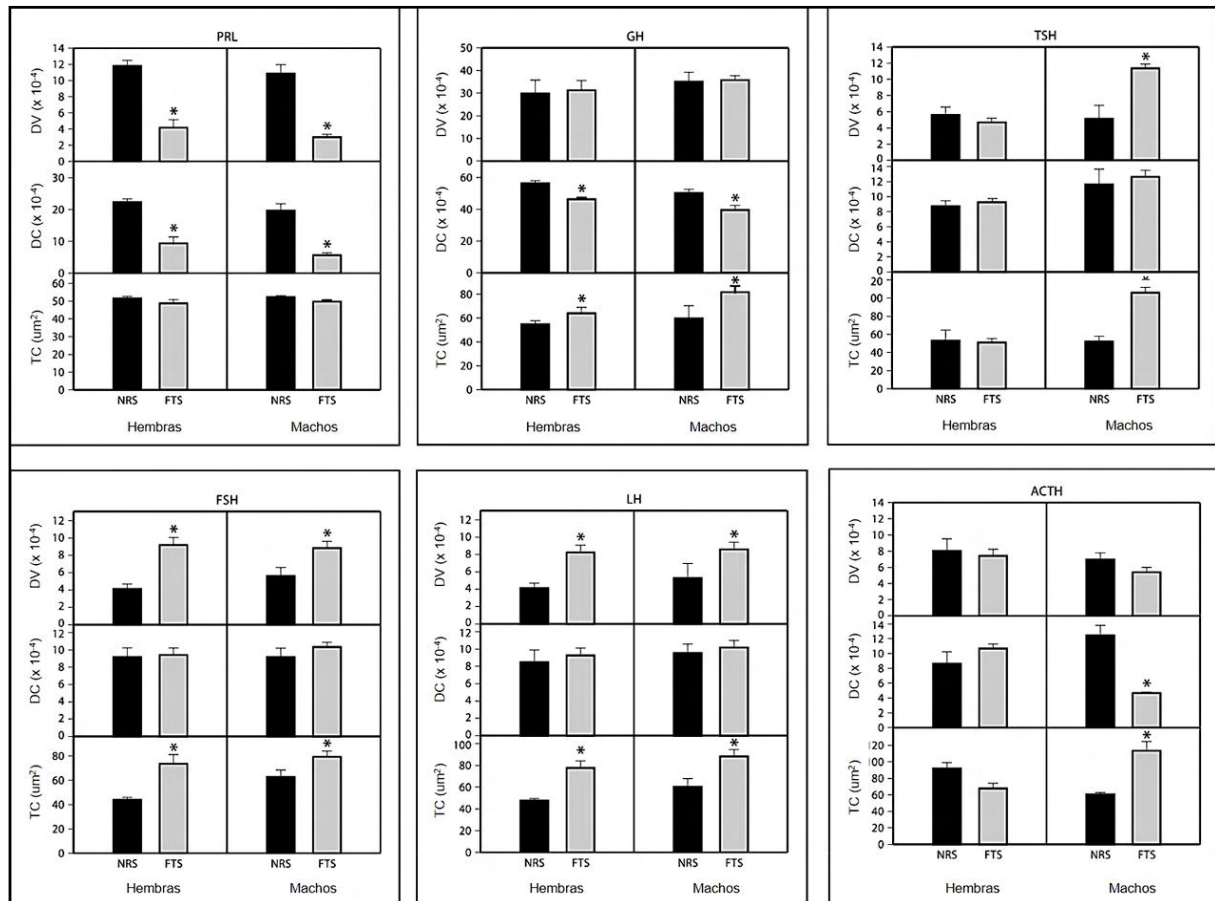


Fig. 12.18 Inmunoneutralización de la timulina. Morfometría (DV, DC y TC) de las poblaciones adenohipofisarias (* $p < 0.01$) (Camihort y col., 2006).

Figs. 12.19-12.20: impacto de la inmunoneutralización de la timulina a corto y largo plazo sobre los niveles séricos hormonales.

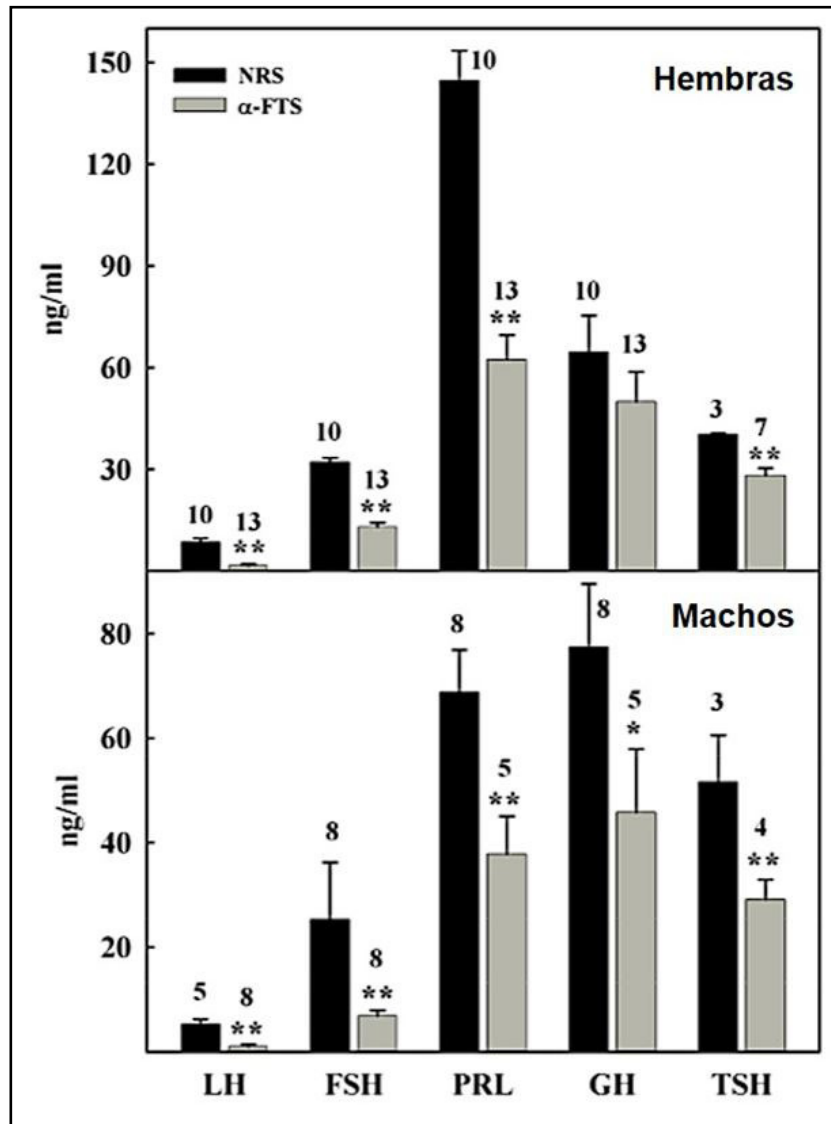


Fig. 12.19 Impacto de la inmunoneutralización de la timulina a corto plazo sobre los niveles séricos de LH, FSH, PRL, GH y TSH en la peripubertad y en ambos sexos.

Los animales experimentales (columnas grises) recibieron suero de conejo anti- α -FTS y los controles (columnas negras) fueron inyectados con suero normal de conejo (NRS). Datos \pm ES. Diferencias significativas: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

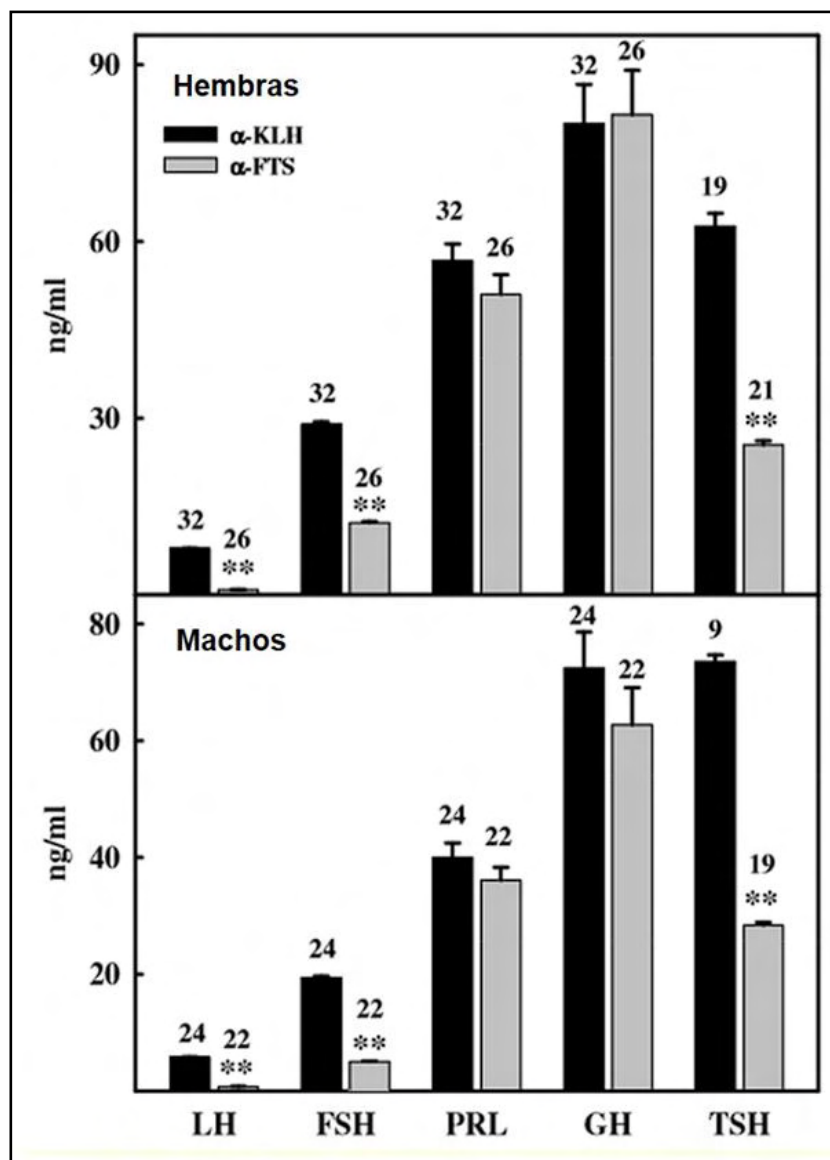


Fig. 12.20 Impacto de la inmunoneutralización de la timulina a largo plazo sobre los niveles séricos de LH, FSH, PRL, GH y TSH en la peripubertad y en ambos sexos. Los animales experimentales (columnas grises) recibieron suero de conejo anti- α -FTS y los controles (columnas negras) fueron inyectados con suero normal de conejo (NRS). Datos \pm ES. Diferencias significativas: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

El descenso del número de células adenohipofisarias con aumento del tamaño celular representaría una respuesta compensatoria que no alcanza a prevenir el descenso de los niveles séricos de las respectivas hormonas.

La inyección del suero de conejo anti-timulina no eliminó completamente la timulina de la circulación, pero causó un drástico y sostenido descenso en los niveles de timulina sérica en los ratones. Aun más, esta inmunoneutralización de la timulina sérica desde el nacimiento hasta cerca de la pubertad en ratones parece tener un ligero impacto negativo sobre el grado de crecimiento que sería concordante con lo comunicado en ratones *nude* y Tx en período neonatal. La influencia de la timulina sobre el crecimiento corporal podría ser efectivizada a través del sistema neuroendocrino. El efecto depresivo que la inmunoneutralización tiene sobre la PRL y las gonadotropinas séricas está en línea con las observaciones en ratones *nude* y con la Tx en etapa neonatal (Goya y col., 1996). Además, Vesenbeckh (2006) ratificó dicho descenso significativo en los niveles de las hormonas adenohipofisarias respecto a los controles en un diseño experimental similar.

Tomados en conjunto, los datos puntualizan la actividad facilitadora de la timulina sobre la secreción hormonal pituitaria. Otros factores asociados con la atimia (ej: el aspecto del animal caquéctico) permanecen no afectados por la inmunoneutralización de la timulina. Esto podría deberse a que las otras hormonas tímicas y los componentes celulares fueron capaces de mantener parte de las funciones inmunes glandulares.

Concluyendo, nuestros resultados morfológicos y séricos permiten presentar a la timulina como un importante mediador del eje pituitario-tímico durante la vida temprana.

12.5 Terapia génica neonatal (TGN) en el ratón *nude* (atímico congénito)

El ratón *nude* exhibe deficiencias vinculadas a su carencia de hormonas tímicas circulantes. Después del nacimiento desarrollan inmunodeficiencia, alteraciones degenerativas en las glándulas tiroideas/adrenales y severas deficiencias reproductivas. La mutación *nude* fue descubierta en 1962, determinándose que era autosómica recesiva y que causaba disgenesia tímica. Los mutantes *nude* carecen de un timo funcional, permaneciendo como rudimentario (o ausente) y producen un número muy reducido de células T maduras (Rygaard, 1973). Además de fallar en la formación del timo, el ratón *nude* (homocigota) presenta un fenotipo desnudo o sin pelo. El alelo mutado *nude* está localizado en el cromosoma 11 y se ha determinado que el gen *whn* representa el gen *nude*.

El **clonado del gen *whn*** permitió establecer:

- a. Los dos clones generados con la mutación *whn* (homocigotas) exhiben las mismas características macroscópicas del ratón *nude* (atimia y la carencia de pelo).
- b. El gen *whn* codifica para una proteína nuclear: el factor de transcripción *whn*.
- c. Las CET expresan el gen *whn*.
- d. Para la formación el primordio tímico no es requerida la expresión del gen *whn*.
- e. Para una exitosa colonización de los precursores de los LT en el rudimento tímico es necesaria la expresión de gen *whn*.
- f. La actividad del gen *whn* también es necesaria para el mantenimiento de la diferenciación de las células precursoras primitivas en los fenotipos de CET (Nehls y col., 1996; Schlake y col., 1997).

La disgenesia tímica parece ser causada por un error metabólico en el ectodermo-mesodermo y por una inadecuada masa mesenquimática en el área mediastínica, produciéndose una falla durante la colonización del rudimento tímico por los protimocitos migrantes, con alteraciones en las células estromales y epiteliales. Estos animales presentaron deficiencias en los LT competentes, aunque mantuvieron un complemento normal de LB y niveles elevados de las células asesinas naturales (NK) y de los macrófagos (Holub y col., 1989). La formación de anticuerpos en estos mutantes estuvo limitada a las IgM y a una respuesta primaria. Los niveles de IgG fluctuaron entre individuos de la misma colonia. Sin embargo, se observó un déficit general en las IgA y una heterogeneidad disminuida de las inmunoglobulinas (Mink y col., 1980).

Los ratones *nude* homocigotas (nu/nu) (desnudos) (Fig. 12.21A) están inmunocomprometidos y los ratones de fenotipo normal (con pelo) son inmunocompetentes. Hay diferencias fenotípicas por la mutación (Fig. 12.21B).

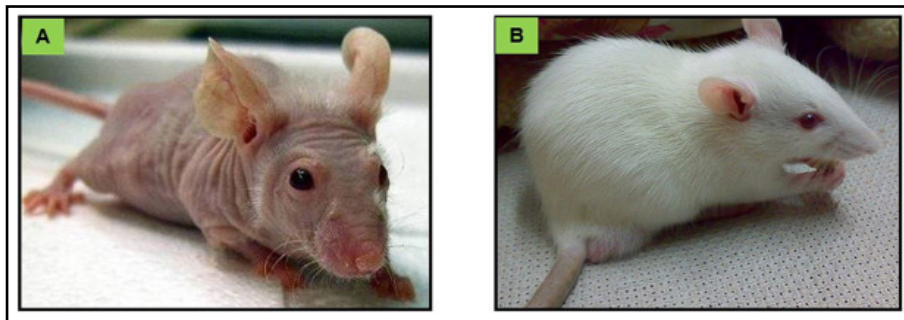


Figura 12.21 A-B. Ratones homocigotas *nude* (A) y heterocigotas (B).

Los *nude* presentan una degeneración de los folículos pilosos que resultan en calvicie, a pesar de que incrementaron la frecuencia de los ciclos de crecimiento piloso (Eaton, 1976). A nivel histológico, mostraron escasos folículos pilosos normales y como consecuencia de la calvicie, tuvieron problemas de termorregulación (Holub, 1989). Además, presentaron un menor peso corporal respecto a los heterocigotas. Las anomalías en el peso podrían estar determinadas genéticamente y/o por una acción prenatal del timo (Rebar y col., 1982).

En condiciones convencionales de crianza, los ratones atímicos mostraron una vida corta (2-4 meses) (Pierpaoli y Sorkin, 1972). No obstante, bajo condiciones libres de gérmenes, se ha observado que la supervivencia máxima del ratón *nude* es la misma que la del ratón salvaje (Holland y col., 1978), pero el promedio de supervivencia de los *nude* fue menor que el de su contraparte heterocigota porque desarrollaron linfomas y fueron más susceptibles a ciertos patógenos naturales (Holub, 1989). La aceptación del trasplante de tumores humanos en *nude* ha permitido el desarrollo de investigaciones en cáncer, convirtiéndolos en el primer modelo experimental inmunodeficiente. Estos mutantes presentaron pérdida de la grasa subcutánea, disminución de los linfocitos periféricos, una rápida deshidratación con hipotermia e hipotonía muscular, diarrea, cataratas y caquexia (fig. 12.22).



Fig. 12.22 Ratón *nude* de 3 meses de edad con caquexia ("wasting") (Pierpaoli y Sorkin, 1972).

En la **fig. 12.23** se muestra el diseño experimental aplicado a ratones *nude* inyectando los vectores adenovirales recombinantes portadores de factor tímico sérico: RAD-FTS o RAD-GFP/TK, portador de proteína fluorescente verde (vector control).

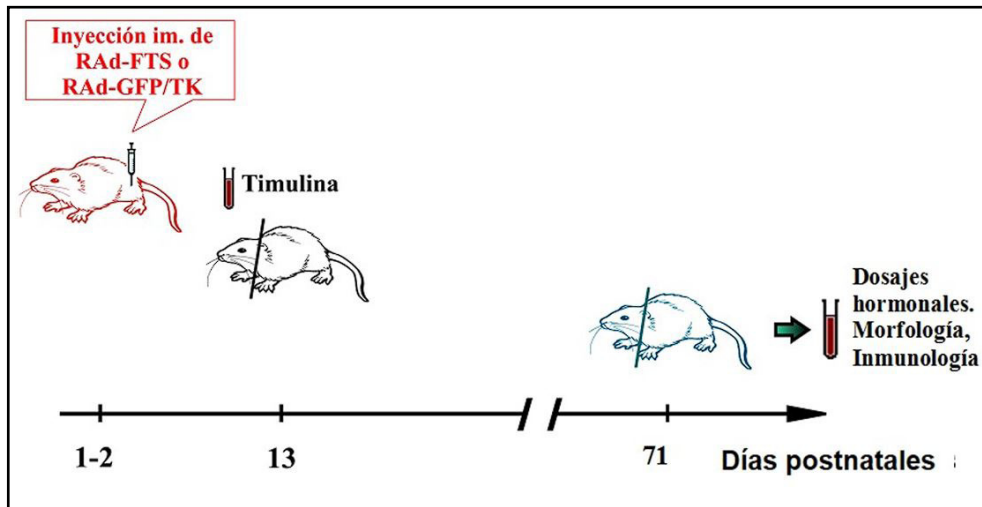


Fig. 12.23 Diseño experimental: TGN con timulina en ratones *nude* (Reggiani, 2009c).

En la **fig. 12.24** se presenta la construcción del vector RAD-timulina.

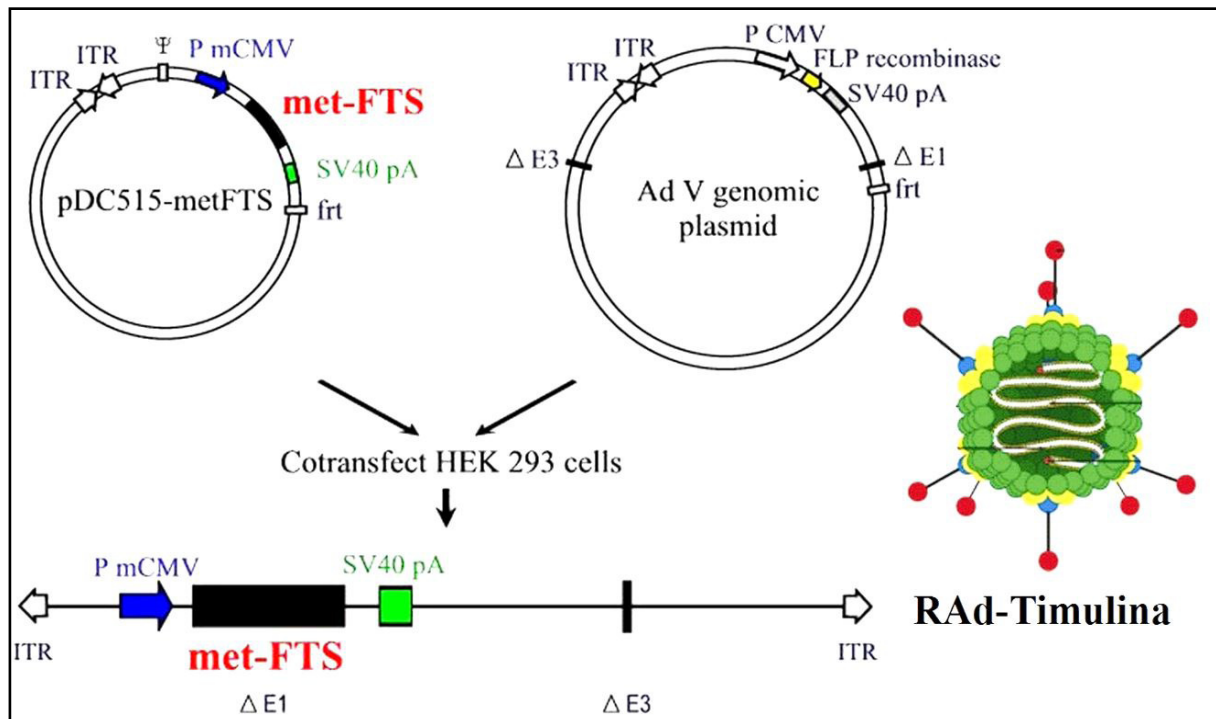


Fig. 12.24 Construcción del vector RAD-timulina (Reggiani y col., 2006).

Referencias

- Alten HE, Groscurth P. The postnatal development of the ovary in the "nude" mouse. *Anat Embryol* 148: 35-46, 1975.
- Bach JF. Thymulin (FTS-Zn). *Clin Immunol Allergy* 3:133-156, 1983.
- Bach JF, Dardenne M, Pleau JM, Bach MA. Isolation, biochemical characteristics, and biological activity of circulating thymic hormone in the mouse and in the human. *Ann N Y Acad Sci* 249:186-210, 1975.
- Bach JF, Dardenne M, Pleau JM. Biochemical characterisation of a serum thymic factor. *Nature* 266(5597):55-57, 1977.
- Ban E et al. Specific binding sites for growth hormone in cultured mouse thymic epithelial cells. *Life Sci* 48(22):2141-48, 1991.
- Besedovsky HO, Sorkin E. Thymus involvement in female sexual maturation. *Nature* 249(455):356-358, 1974.
- Brown OA et al. Thymulin stimulates prolactin and thyrotropin release in an age-related manner. *Mech Ageing Dev* 104(3):249-262, 1998.
- Brown OA et al. Growth hormone-releasing activity of thymulin on pituitary somatotropes is age dependent. *Neuroendocrinology* 69(1):20-27, 1999.
- Brown OA et al. Studies on the gonadotropin-releasing activity of thymulin: changes with age. *J Gerontol Biol Sci* 55(4): B170-176, 2000.
- Buckingham JC et al. Interactions between the hypothalamo-pituitary- adrenal axis and the thymus in the rat: a role for corticotrophin in the control of thymulin release. *J Neuroendocrinol* 4(3):295-301, 1992.
- Camihort G, Luna G, Vesenbeckh S, Ferese C, Dardenne M, Goya R, Cónsole G. Morphometric assessment of impact of serum thymulin immunoneutralization on the pituitary cell populations in peripubertal mice. *Cell Tissues Organs* 184(1):23-30, 2006.
- Charreire J, Bach JF. Binding of autologous erythrocytes to immature T-cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 72(8):3201-05, 1975.
- Cung MT et al. NMR study of a lymphocyte differentiating thymic factor. An investigation of the Zn(II)-nonapeptide complexes (thymulin). *J Biol Chem* 263(12):5574-80, 1988.
- Dalmaso AP, Martinez C, Good RA. Cap. 26: Studies of immunologic characteristics of lymphoid cells from thymectomized mice. *The thymus in immunobiology: structure, function, and role in disease*. In: Hoeber Medical Division, Harper & Row. New York, 1964:478-491.
- Daneva T, Spinedi E, Hadid R, Gaillard RC. Impaired hypothalamo-pituitary-adrenal axis function in Swiss nude athymic mice. *Neuroendocrinology* 62(1):79-86, 1995.
- Dardenne M, Kelly PA, Bach JF, Savino W. Identification and functional activity of prolactin receptors in thymic epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 8:9700-04, 1981.
- Dardenne M et al. Studies on thymus products. III. Epithelial origin of the serum thymic factor. *Immunology* 27(2):299-304, 1974.
- Dardenne M et al. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of serum thymic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 79(17):5370-73, 1982.
- Dardenne M et al. Thymic hormone-containing cells. VII. Adrenals and gonads control the in vivo secretion of thymulin and its plasmatic inhibitor. *J Immunol* 136(4):1303-08, 1986.
- Dardenne M et al. Neuroendocrine control of thymic hormonal production. I. Prolactin stimulates in vivo and in vitro the production of thymulin by human and murine thymic epithelial cells. *Endocrinology* 125(1):3-12, 1989.
- Deschaux P, Massengo B, Fontanges R. Endocrine interaction of the thymus with the hypophysis, adrenals and testes: effects of two thymic extracts. *Thymus* 1(1-2):95-108, 1979.
- Dunn HG et al. Ataxia-telangiectasia. *Can Med Assoc J* 92:1106-18, 1964.
- Eaton GJ. Hair growth cycles and wave patterns in "nude" mice. *Transplantation* 22(3):217-222, 1976.

- Fabris N et al. Thyroid function modulates thymic endocrine activity. *J Clin Endocrinol Metab* 62(3):474-47, 1986.
- Fabris N et al. Thyroid-thymus interactions during development and aging. *Horm Res* 31(1-2):85-8, 1989.
- Fabris N et al. Hormones and the immunological capacity. IV. Restorative effects of developmental hormones or of lymphocytes on the immunodeficiency syndrome of the dwarf mouse. *Clin Exp Immunol* 9(2):227-240, 1971.
- Fabris N. Immunodepression in thyroid-deprived animals. *Clin Exp Immunol* 15(4):601-611, 1973.
- Farah JM et al. Thymosin fraction 5 stimulates secretion of immunoreactive beta-endorphin in mouse corticotropic tumor cells. *J Neurosci Res* 18(1):140-146, 1987.
- Fisher ER. Pathology of the thymus and its relation to human disease. In: Hoeber Medical Division, Harper & Row. New York, 1964:676-729.
- Folch H et al. Neuroendocrine regulation of thymus hormones: hypothalamic dependence of "facteur thymique serique" level. *Cell Immunol* 102(1):211-216, 1986.
- Gaillard R et al. The hypothalamo-pituitary-adrenal axis of athymic Swiss nude mice. The implications of T lymphocytes in the ACTH release from immune cells. *Ann NY Acad Sci* 840:480-490, 1998.
- García L et al. Effects of infantile thymectomy on ovarian functions and gonadotrophin-induced ovulation in prepubertal mice: role of thymulin. *J Endocrinol* 166(2):381-387, 2000.
- Gastinel LN, Dardenne M, Pléau JM, Bach JF. Studies on the zinc binding site to the serum thymic factor. *Biochim Biophys Acta* 797(2):147-155, 1984.
- Goff BL et al. Growth hormone treatment stimulates thymulin production in aged dogs. *Clin Exp Immunol* 68(3):580-587, 1987.
- Goya RG et al. In vivo effects of growth hormone on thymus function in aging mice. *Brain Behav Immun* 6(4):341-354, 1992.
- Goya RG et al. Effects of growth hormone and thyroxine on thymulin secretion in aging rats. *Neuroendocrinology* 58(3):338-343, 1993.
- Goya R, Sosa, YE, Cónsole, GM, Dardenne, M. Altered regulation of serum prolactin in nude mice. *Med Sci Res* 24:279-280, 1996.
- Goya RG, Cónsole GM, Sosa YE, Gómez Dumm CLA, Dardenne M. Altered functional responses with preserved morphology of gonadotrophic cells in congenitally athymic mice. *Brain Behav Immun* 15:85-92, 2001.
- Goya RG, Reggiani PC, Vesenbeckh SM, Pléau JM, Sosa YE, Cónsole GM, Schade R, Henklein P, Dardenne M. Thymulin gene therapy prevents the reduction in circulating gonadotropins induced by thymulin deficiency in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293(1):E182-187, 2007.
- Goya RG, Sosa YE, Cónsole GM, Dardenne M. Altered thyrotropic and somatotropic responses to environmental challenges in congenitally athymic mice. *Brain Behav Immun* 9(2):79-86, 1995.
- Goya RG et al. Immune-neuroendocrine interactions during aging: age-dependent thyrotropin-inhibiting activity of thymosin peptides. *Mech Ageing Dev* 41(3):219-227, 1987.
- Hadden JW. Thymic endocrinology. *Int J Immunopharmacol* 14(3):345-352, 1992.
- Hadley AJ, Rantle CM, Buckingham JC. Thymulin stimulates corticotrophin release and cyclic nucleotide formation in the rat anterior pituitary gland. *Neuroimmunomodulation* 4(2):62-69, 1997.
- Harris GW, Levine S. Sexual differentiation of the brain and its experimental control. *J Physiol* 181(2):379-400, 1965.
- Healy DL, Bacher J, Hodgen GD. Thymic regulation of primate fetal ovarian-adrenal differentiation. *Biol Reprod* 32(5):1127-33, 1985.
- Healy DL et al. The thymus-adrenal connection: thymosin has corticotropin-releasing activity in primates. *Science* 222(4630):1353-55, 1983.
- Hinojosa L et al. Effects of thymulin on spontaneous puberty and gonadotrophin-induced ovulation in prepubertal normal and hypothyroid mice. *J Endocrinol* 163(2):255-260, 1999.
- Hinojosa L et al. Effects of thymulin and GnRH on the release of gonadotropins by in vitro pituitary cells obtained from rats in each day of estrous cycle. *Life Sci* 76(7):795-804, 2004.

- Holland JM et al. Survival and cause of death in aging germfree athymic nude and normal inbred C3H/He mice. *J Natl Cancer Inst* 61(5):1357-61, 1978.
- Holub M. Immunology of nude mice. In: Boca Raton, Fla. CRC Press, 1989.
- Ledwitz-Rigby F, Scheid PG. Thymulin modulates porcine granulosa cell responsiveness to gonadotrophins in vitro. In: Signaling messages and gene expression in the ovary. In: Gibori G, ed., New York. Springer-Verlag, 1991:473-478.
- Lintern-Moore S, Pantelouris EM. Ovarian development in athymic nude mice. The size and composition of the follicle population. *Mech Ageing Dev* 4(5-6):385-390, 1975.
- Martínes E, Reggiani P, Camihort G, Luna G, Goya R, Cónsole G. The thymulin-lactotropic axis in rodents: thymectomy, immunoneutralization and gene transfer studies. *Neuroimmunomodulation* 20(5):256-263, 2013.
- Martínes EV, Reggiani PC, Schwerdt JI, Goya RG, Cónsole GM. Thymulin gene therapy prevents the histomorphometric changes induced by thymulin deficiency in the thyrotrope population of mice. *Cells Tissues Organs* 194(1):67-75, 2011a.
- Martínes EV, Reggiani PC, Schwerdt JI, Goya RG, Cónsole GM. Neonatal thymulin gene therapy in nude mice: Effects on the morphology of the pituitary corticotrope population. *Histol Histopathol* 26(4):471-479, 2011b.
- Mendoza ME, Romano MC. Prepubertal rat thymus secretes a factor that modulates gonadotropin secretion in cultured rat pituitary cells. *Thymus* 1989; 14(4):233-242.
- Michael SD, Taguchi O, Nishizuka Y. Effect of neonatal thymectomy on ovarian development and plasma LH, FSH, GH and PRL in the mouse. *Biol Reprod* 22(2):343-350, 1980.
- Michael SD, Taguchi O, Nishizuka Y. Changes in hypophyseal hormones associated with accelerated aging and tumorigenesis of the ovaries in neonatally thymectomized mice. *Endocrinology* 108(6):2375-80, 1981.
- Mink JG et al. Serum immunoglobulins in nude mice and their heterozygous littermates during ageing. *Immunology* 40(4):539-545, 1980.
- Mocchegiani E, Amadio L, Fabris N. Neuroendocrine-thymus interactions. I. In vitro modulation of thymic factor secretion by thyroid hormones. *J Endocrinol Invest* 13(2):139-147, 1990a.
- Mocchegiani E et al. Influence of growth hormone on thymic endocrine activity in humans. *Horm Res* 33(6):248-255, 1990b.
- Mocchegiani E et al. Thymulin, zinc and insulin-like growth factor-I (IGF-I) activity before and during recombinant growth hormone (rec-GH) therapy in children and adults with GH deficiency. *J Endocrinol Invest* 19(9):630-637, 1996.
- Morel GR, Reggiani PC, Cónsole GM et al. Potential of gene therapy for restoration of endocrine thymic function in thymus-deficient animal models. *Curr Gene Ther* 8(1):49-53, 2008.
- Nehls M et al. Two genetically separable steps in the differentiation of thymic epithelium. *Science* 272(5263):886-889, 1996.
- Nishizuka Y, Sakakura T. Ovarian dysgenesis induced by neonatal thymectomy in the mouse. *Endocrinology* 89(3):889-893, 1971.
- Nishizuka Y, Sakakura T. Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* 166(3906):753-755, 1969.
- Oates KK et al. Mechanism of action of the thymosins: modulation of lymphokines, receptors, and T-cell differentiation antigens. *Inmunol Ser* 45:273-288, 1989.
- Pierpaoli W, Besedovsky HO. Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions. *Clin Exp Immunol* 20(2):323-338, 1975.
- Pierpaoli W, Sorkin E. Alterations of adrenal cortex and thyroid in mice with congenital absence of the thymus. *Nat New Biol* 238(87):282-285, 1972.
- Pierpaoli W, Bianchi E, Sorkin E. Hormones and the immunological capacity. V. Modification of growth hormone-producing cells in the adenohypophysis of neonatally thymectomized germ-free mice: an electron microscopical study. *Clin Exp Immunol* 9(6):889-901, 1971.

- Pierpaoli W, Fabris N, Sorkin E. Developmental hormones and immunological maturation. *Ciba Found Study Group* 1970, 36:126-153.
- Pierpaoli W, Kopp HG, Bianchi E. Interdependence of thymic and neuroendocrine functions in ontogeny. *Clin Exp Immunol* 24(3):501-506, 1976.
- Rebar RW et al. Thymosin stimulates secretion of luteinizing hormone-releasing factor. *Science* 214(4521):669-671, 1981a.
- Rebar RW et al. The hormonal basis of reproductive defects in athymic mice: diminished gonadotropin concentrations in prepubertal females. *Endocrinology* 1981b; 108(1):120-126.
- Rebar RW et al. Hormonal basis of reproductive defects in athymic mice: reduced gonadotropins and testosterone in males. *Biol Reprod* 27(5):1267-76, 1982.
- Reggiani PC, Barbeito CG, Zuccolilli GO, Cónsole GM et al. Neonatal thymulin gene therapy prevents ovarian dysgenesis and attenuates reproductive derangements in nude female mice. *Endocrinology* 153(8):3922-28, 2012b.
- Reggiani PC et al. Gene therapy for long-term restoration of circulating thymulin in thymectomized mice and rats. *Gene Ther* 13(16):1214-21, 2006.
- Reggiani PC, Martínez E, Ferese C, Goya R, Console GM. Morphological restoration of gonadotrope population by thymulin gene therapy in nude mice. *Histol Histopathol* 24(6):729-735, 2009b.
- Reggiani PC, Martínez EV, Camihort GA, Poch B, Goya RG, Cónsole GM. Role of thymulin on the somatotrophic axis in vivo. *Life Sci* 91(5-6):166-171, 2012a.
- Reggiani PC, Morel GR, Cónsole GM et al. The thymus-neuroendocrine axis: physiology, molecular biology, and therapeutic potential of the thymic peptide thymulin. *Ann NY Acad Sci* 1153:98-106, 2009a.
- Reggiani PC, Schwerdt JI, Cónsole GM et al. Physiology and therapeutic potential of the thymic peptide thymulin. *Current Pharm Des* 20(29):4690-96, 2014.
- Reggiani PC. Terapia génica para la hormona tímica timulina en modelos de timodeficiencia. Tesis doctoral, 2009c.
- Rygaard J. Thymus and self-immunobiology of the mouse mutant nude. In: Copenhagen: FADL, 1973.
- Safieh-Garabedian B et al. The role of cytokines and prostaglandin-E2 in thymulin induced hyperalgesia. *Neuropharmacology* 39(9):1653-61, 2000.
- Safieh-Garabedian B et al. Thymulin related peptide attenuates inflammation in the brain induced by intracerebroventricular endotoxin injection. *Neuropharmacology* 60(2-3):496-504, 2011.
- Safieh-Garabedian B et al. Hyperalgesia induced by low doses of thymulin injections: possible involvement of prostaglandin E2. *J Neuroimmunol* 73(1-2):162-168, 1997.
- Safieh-Garabedian B et al. Thymulin and its role in immunomodulation. *J Autoimmun* 5(5):547-555, 1992.
- Safieh-Garabedian B et al. Thymulin reverses inflammatory hyperalgesia and modulates the increased concentration of proinflammatory cytokines induced by i.c.v. endotoxin injection. *Neuroscience* 121(4):865-873, 2003.
- Savino W, Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocr Rev* 21(4):412-443, 2000.
- Savino W et al. IX. Steroids in vitro modulate thymulin secretion by human and murine thymic epithelial cells. *J Steroid Biochem* 30(1-6): 479-484, 1988.
- Savino W et al. Thymic hormone containing cells. IV. Fluctuations in the thyroid hormone levels in vivo can modulate the secretion of thymulin by the epithelial cells of young mouse thymus. *Clin Exp Immunol* 55(3):629-635, 1984.
- Schlake T et al. The nude gene encodes a sequence-specific DNA binding protein with homologs in organisms that lack an anticipatory immune system. *Proc Natl Acad Sci USA* 94(8):3842-47, 1997.
- Schwerdt JI, Hereñú C, Rimoldi O, Cónsole G et al. Terapia génica en el eje hipotalámico-hipofisario con IGF-I en ratas hembras envejecidas. I Congreso Internacional de Medicina. Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, 2013.
- Solomon JB. Ontogeny of defined immunity in mammals. In: Neuberger A, Tatum EL, eds. Foetal and Neonatal Immunology. *Frontiers of Biology*. New York, American Elsevier Publishing Co 1971:234-306.

- Strich G et al. The effects of thymus-derived peptides on hypothalamic LRF and pituitary gonadotropin content in prepubertal congenitally athymic nude mice and their normal heterozygous littermates. *J Reprod Immunol* 7(4):351-359, 1985.
- Timsit J et al. Growth hormone and insulin-like growth factor-I stimulate hormonal function and proliferation of thymic epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 75(1):183-188, 1992.
- Vesenbeckh S. Vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité. Unniversitätsmedizin Berlin. Doctoral thesis: Studies in mice on the role of the thymic hormone thymulin during early life as a maturational factor for the neuroendocrine system. Directors: Dr. R. Schade and Dr. R. Goya, 2006.
- Villa-Verde DM et al. Pleiotropic influence of triiodothyronine on thymus physiology. *Endocrinology* 133(2):867-875, 1993.
- Wise T, Ford JJ. Effects of the thymic peptide thymulin on in vitro and in vivo testicular steroid concentrations in white composite and Meishan boars. *J Anim Sci* 77(8):2240-51, 1999.
- Wise T. In vitro and in vivo effects of thymulin on rat testicular steroid synthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 66(3):129-135, 1998.
- Zaidi SA et al. The release of luteinizing hormone from pituitaries perfused with thymic extracts. *Thymus* 12(4):253-264, 1988.

CAPÍTULO 13

HIPÓFISIS Y MALNUTRICIÓN

13.1 Pituitaria y malnutrición.

Se creó un modelo experimental de malnutrición en monos (*Saimiri sciureus boliviensis*) que permitió hacer una correlación entre la morfología de la pituitaria y el estudio longitudinal del crecimiento-desarrollo de los componentes neurocraneano-faciales, así como la longitud de los huesos largos, considerando la incidencia de los **factores intrínsecos** (edad, sexo, estructura corporal) y **extrínsecos** (nutrición, condiciones sociales, medio ambiente) (Pucciarelli y col., 1990; Oyhenart y Pucciarelli, 1992; Corner y Richtsmeier, 1992; Pucciarelli y Dressino, 1996; Dressino y Pucciarelli, 1997 y 1999; Pucciarelli y col., 2000).

La malnutrición afecta el crecimiento de:

- A. El complejo creaneofacial.
- B. El esplanocráneo.
- C. Los componentes medioneurales y respiratorios.

La malnutrición influye la forma del cráneo a través de la relación entre el componente ántero-neural y el neurocráneo (Pucciarelli y col., 1990) y afecta el crecimiento postdestete en tamaño, pero no cambia la forma en relación a la ortocefalización (Pucciarelli y Dressino, 1996).

El crecimiento longitudinal del mono ardilla joven (*Saimiri sciureus boliviensis*) sigue tres patrones:

1. **Lineal simple:** longitud femoral de todos los grupos e índice pélvico de hembras malnutridas (la ecuación de regresión explica 95% de la variación).
2. **Complejo lineal:** índice pélvico de controles y machos malnutridos e índices neurocraneal y faciales de todos los grupos.
3. **Sin correlación con la edad:** índice neurofacial de hombres malnutridos e índice pélvico-femoral de hembras-machos malnutridos y mujeres (Pucciarelli y col., 2000).

La **heterocronía** es el estudio de los cambios evolutivos en las tasas relativas y marca el crecimiento-desarrollo. Ramírez Rozzi y col. (2005) sugieren que la heterocronía puede provenir del medio ambiente y no ser exclusivamente genética.

La secreción de hormonas hipofisarias se hace mediante mecanismos estimulatorios e inhibitorios, así como por la acción de agentes paracrinós intraglandulares. La privación de alimento

disminuyó la somatostatina y la hormona liberadora de GH (GHRH) en las neuronas de la eminencia media hipotalámica y también redujo los niveles de ARNm para somatostatina, GHRH y GH (Brogan y col., 1997).

Polkowska y col. (1996) detectaron que la restricción dietaria proteica crónica (8% en 20 semanas) en corderos hembras disminuyó el contenido hipotalámico de somatostatina y Hara y col. (1998), mostraron un descenso en el número de células lactotropas y somatotropas, en ratas alimentadas con una dieta hipoproteica (8% en 30 días).

La GH es descripta como anabólica, lipolítica y antagonista de la insulina y facilitaría un mejor uso de los nutrientes durante los períodos de deprivación (Snyder y col., 1988). La edad y el estado nutricional determinaron variaciones en los patrones de secreción hormonal (Snyder y col., 1988; Vance y col., 1992).

La administración pulsátil de GH a adultos deficientes causó alteraciones significativas en el metabolismo de proteínas, hidratos de carbono y lípidos, sustentando la hipótesis de que la GH juega un rol importante en el uso de los nutrientes (Vance y col., 1992).

Además, los datos bioquímicos han permitido la detección de reducidos niveles de GH (Nitzan y Wilber, 1974), junto con una menor actividad sérica de las somatomedinas en ratas malnutridas (Price y col., 1979). Los niños con deficiencia de GH han sido tratados con GH recombinante humana (GHh) mostrando un aumento en la velocidad de crecimiento y en la densidad mineral ósea, en especial en los primeros 5 años de tratamiento. La terapia con GHh aumentó la velocidad de crecimiento y la altura final alcanzada en los niños con insuficiencia renal crónica (Lanes, 2000).

Además, la restricción calórica redujo el estrés oxidativo, mejoró la sensibilidad a la insulina y alteró la respuesta neuroendocrina en el eje gonadal, proporcionando nuevas estrategias para el manejo de la disfunción reproductiva (Martin y col., 2008). La calidad y la cantidad de la dieta alimentaria tienen marcadas influencias sobre la síntesis de las hormonas (Cheek y Hill, 1974; Pimstone, 1976; Phillips, 1986; Brogan y col., 1997).

El diseño experimental, la dieta hipocalórica e hipoproteica (**cuadro 13.1**) produjo severo retardo del crecimiento en humanos y en animales de laboratorio.

Cuadro 13.1. Composición de las dietas control (20%) e hipoproteica (10%).

Componente	Dieta control (g)	Dieta hipoproteica (g)
Harina de soja	28.0	9.9
Harina de trigo	14.7	8.0
Glucosa	0.0	6.7
Leche en polvo	10.6	4.9
Salvado de trigo	5.6	5.6
Sacarosa	3.5	3.5
Arroz	3.3	6.6
Maicena	3.0	21.4
Margarina	4.2	6.7
Huevo	7.0	3.2
Mezcla de vitaminas	1.5	1.5

La malnutrición retarda el peso corporal, pero no el peso cerebral de los animales malnutridos, respecto a los controles. Los valores volumétricos registrados fueron siempre mayores en machos respecto a hembras (**cuadro 13.2**). Resultados similares fueron hallados en ratas (Pucciarelli, 1981) y en humanos (Pucciarelli y col, 1993).

Cuadro 13.2. Pesos corporal y cerebral de monos controles y malnutridos.

Grupos	Peso corporal	Peso cerebral
Hembras controles	438.00 ± 26.10	26.43 ± 3.29
Machos controles	527.67 ± 17.47	26.85 ± 1.48
Hembras malnutridas	357.75 ± 56.62	26.37 ± 1.81
Machos malnutridos	428.00 ± 31.18	26.30 ± 1.00

Los valores son expresados en gramos como promedio ± ES.

13.2 Poblaciones adenohipofisarias y malnutrición

En el **cuadro 13.3** se muestra la distribución porcentual de la densidad de volumen (DV) en las diferentes poblaciones adenohipofisarias de monos malnutridos y controles.

Cuadro 13.3. Porcentaje de poblaciones.

Poblaciones (%)	Machos controles	Machos malnutridos	Hembras controles	Hembras malnutridas
Somatotropa	26.7	9.7 *	16.4	6.7 *
Lactotropa	12.3	4.0 *	23.0	7.9 *
Luteinizante	7.7	2.4 *	7.3	1.9 *
Folículo­tropa	3.3	1.1 *	3.2	0.8 *
Tirotropa	0.4	0.2 *	0.6	0.2 *
Corticotropa	3.1	3.1 NS	2.8	2.5 NS
Cromó­foba	46.4	79.5 *	46.9	79.9 *

NS no significativo, *p < 0.05.

El incremento porcentual de las poblaciones somatotropa, lactotropa, gonadotropa y tirotropa, sin cambios significativos en las corticotropas, podría estar asociado a un aumento de la población cromó­foba (células inmaduras y células involutivas).

En nuestro estudio morfológico se observa un patrón granular citoplasmático con descenso en el número de somatotropas, lactotropas, gonadotropas y tiotropas de monos malnutridos de ambos sexos.

No se hallaron cambios morfológicos en la población corticotropa (**fig. 13.1**). La ACTH, hormona de la vida, estaría mantenida en sus niveles plasmáticos basales (Cónsole, 2001a-b).

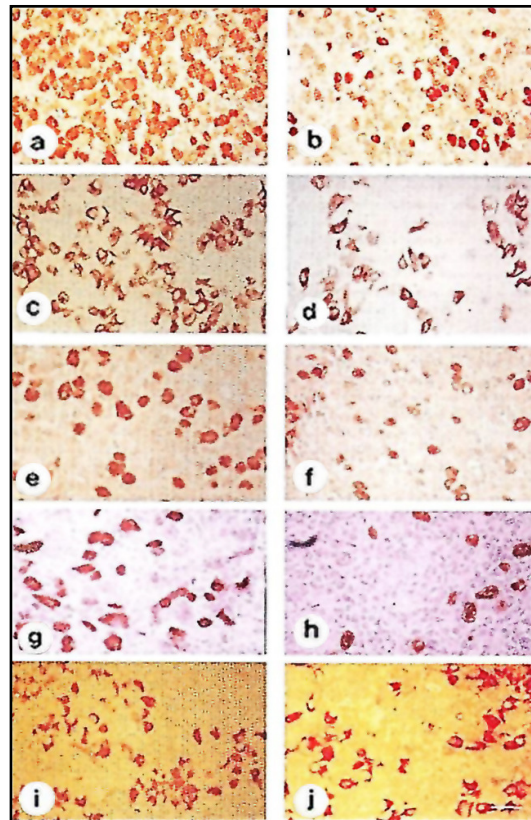


Fig. 13.1 (a-j). Campos representativos de las células adenohipofisarias.

Somatotropas: machos: **a.** controles, **b.** malnutridos. **Lactotropas:** hembras: **c.** controles, **d.** malnutridas. **Gonadotropas:** machos: **e.** controles, **f.** malnutridos. **Tirotropas:** machos: **g.** controles, **h.** malnutridos. **Corticotropas:** machos: **i.** controles, **j.** malnutridos. (EnVision peroxidasa: anti-GH, -PRL, -LH/FSH, -TSH, -ACTH, x 200) (Cónsole y col, 2001).

El análisis morfométrico registró un descenso significativo ($p < 0.05$) de la densidad de volumen (DV) y de la densidad de células (DC) en las poblaciones somatotropa, lactotropa, gonadotropa y tirotrópa de monos malnutridos comparados con sus contrapartes controles. No se detectaron diferencias significativas en la DC y en la DV de la población corticotropa (**fig. 13.2**).

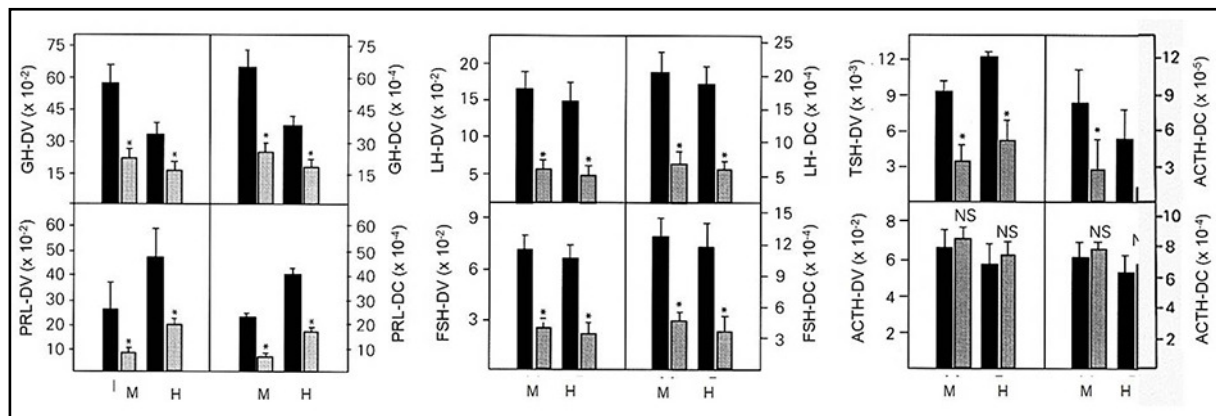


Fig. 13.2 Densidad de volumen (DV) y densidad de células (DC) en las poblaciones adenohipofisarias.

GH y PRL. FSH y LH. Machos (M), hembras (H), controles (barras negras) y malnutridos (barras grises), * $p < 0.05$, NS: no significativo (Cónsole y col, 2001).

En concordancia con nuestras observaciones, se comunicó descenso del tamaño de las somatotropas y lactotropas en ratas malnutridas (Medvedev y col., 1995; Hara y col., 1998; Molon-Noblot y col., 2003), mientras Shimokawa y col. (1996) no hallaron cambios en las somatotropas sometidas a restricción dietética. Herbert y col. (1993) mostraron descenso de algunos parámetros adenohipofisarios en ratas malnutridas.

Nuestros datos mostraron descenso de la población gonadotropa en monos malnutridos, de acuerdo con las alteraciones morfológicas descritas en ratas malnutridas por Herbert (1980) y Heindel y col. (1988). Además, hubo descenso de la función ovárica y testicular en ratas restringidas (Hre) (Heindel y col., 1988).

Respecto a la población corticotropa no pudimos detectar cambios significativos, mientras Herbert y Carrillo (1982) hallaron un incremento de la población corticotropa en la malnutrición, sugerente de una estimulación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal. El dimorfismo sexual registrado en las poblaciones somatotropa y lactotropa se correlacionó con los patrones morfométricos cráneo-faciales en monos malnutridos cuando se compararon con los controles. Resultados similares fueron hallados en ratas (Herbert, 1980; Pucciarelli 1981; Oyhenart y Pucciarelli, 1992) y en humanos (Pucciarelli y col., 1993).

13.3 Ultraestructura de las poblaciones adenohipofisarias y malnutrición.

Nuestro estudio ultraestructural mostró en todas las células adenohipofisarias (excepto las corticotropas) un descenso en el número de gránulos secretorios, actividad exocítica, RER dilatado y Golgi expandido (**fig. 13.3**) que mayor liberación compensatoria del material secretorio, sugerente de un patrón de hiperestimulación.

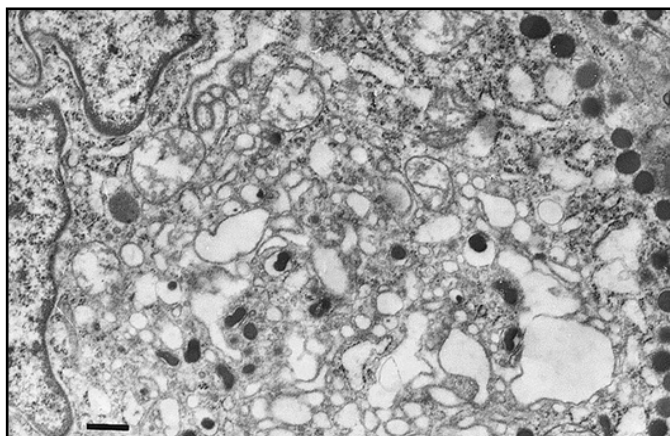


Fig. 13.3 Somatotropa de mono malnutrido.

Gránulos secretorios en contacto con la membrana plasmática y complejo de Golgi expandido y dilatado (x 18.000).

Fig. 13.4 A: lactotropas de monos malnutridos: Golgi hipertrófico, gránulos secretorios pleomórficos (rango de 100 a 600 nm) y RER irregular. **B.** Cristaloides.

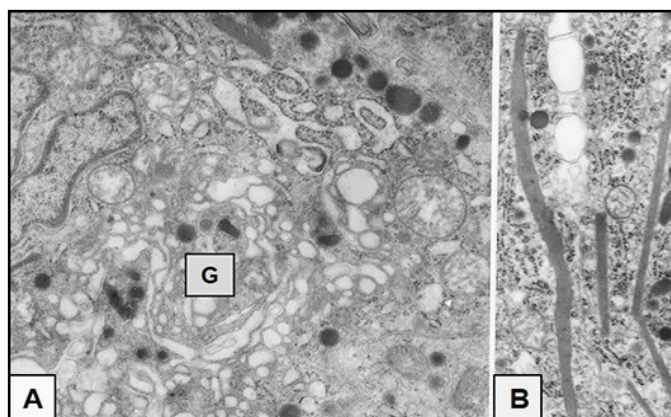


Fig. 13.4 A-B. Lactotropa de mono malnutrido.

A. Golgi (G) hipertrófico con gránulos inmaduros, gránulos secretorios periféricos y RER irregular (18000x). **B.** Largos cristaloides citoplasmáticos (x 18.000).

Fig. 13.5: en algunas lactotropas se observan largos cristaloides citoplasmáticos.

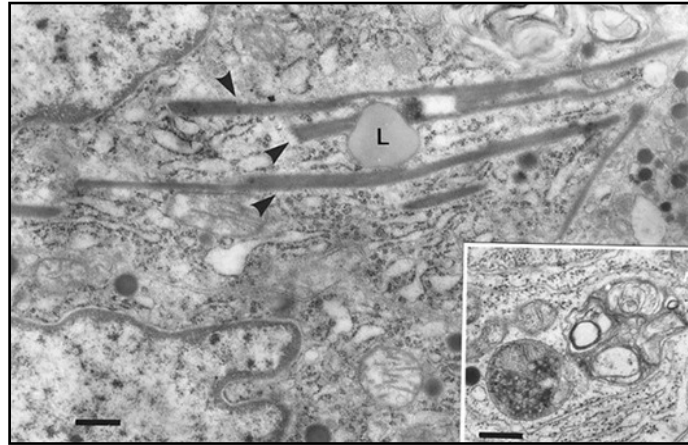


Fig. 13.5 Lactotropa de mono malnutrido. Largos cristaloides (cabezas de flechas) relacionados con gotas de lípidos (L). Recuadro: lisosomas heterogéneos con perfiles multilaminados. Barras: 500 nm.

En **fig. 13.6** se ven exocitosis y RER desarrollado.

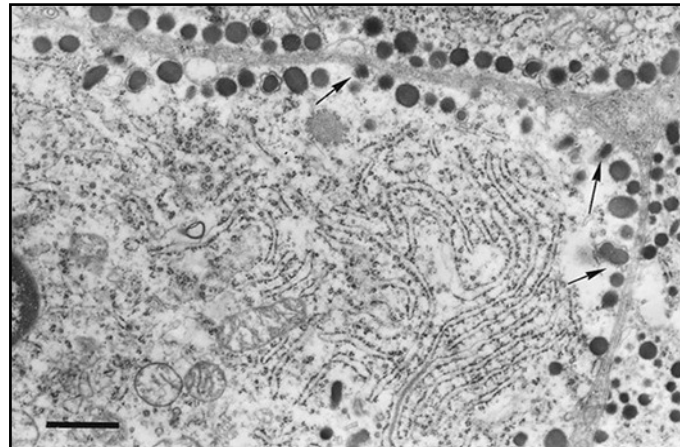


Fig. 13.6 Lactotropa de mono malnutrido. RER muy desarrollado con ribosomas adheridos, ribosomas libres y exocitosis en los gránulos secretorios marginales (flechas). Barra: 1 μ m.

Fig. 13.7: folículotropa con RER dilatado, Golgi expandido y gránulos secretorios.

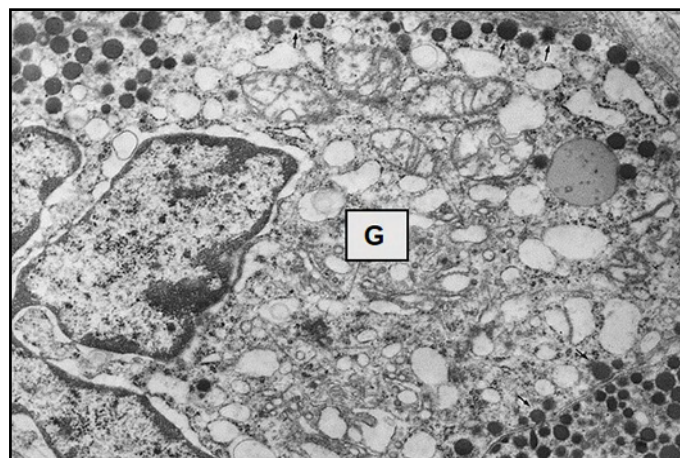


Fig. 13.7 Folículotropa de mono malnutrido. RER dilatado, gránulos secretorios periféricos junto a la membrana plasmática (flechas) y Golgi (G) expandido (x 13.000).

Fig. 13.8: TSH: RER, polirribosomas y gránulos secretorios periféricos (**fig. 13.8**).

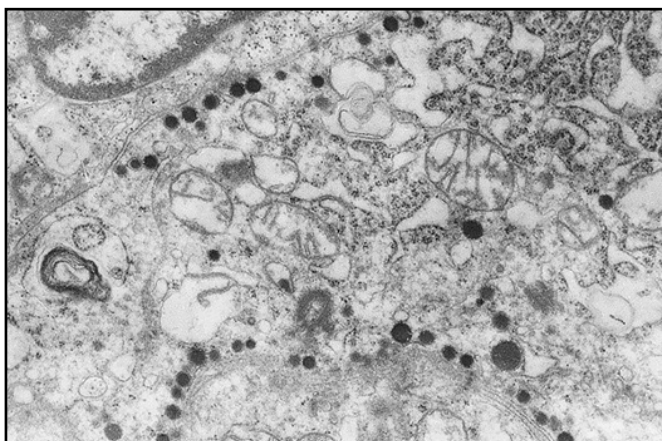


Fig. 13.8 Tirotropa de mono malnutrido.

RER dilatado con abundantes polirribosomas y pequeños gránulos secretorios periféricos. (x 24.000).

Las corticotropas en un diseño de malnutrición presentan características normales cuando se comparan con el grupo control (**fig. 13.9**).

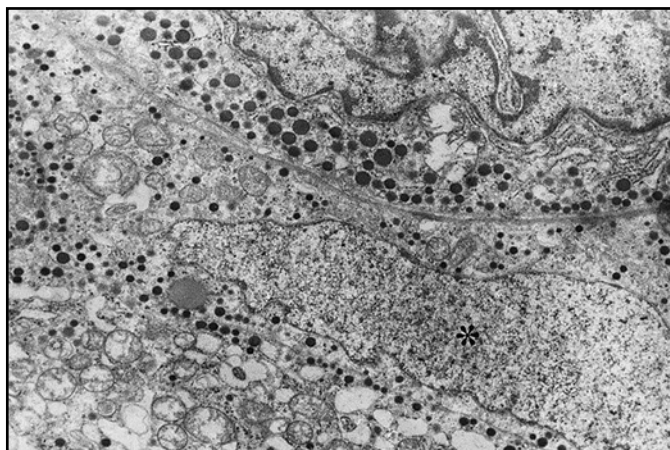


Fig. 13.9 Corticotropa de mono malnutrido.

Se ve corticotropa con electrotransparencia y gránulos periféricos (x 10.000).

Gómez Dumm y col. (1982 y 1987) comunicaron interesantes cambios ultraestructurales en la población somatotropa de ratas con dieta postdestete y Medvedev y col. (1995) detectaron un descenso en el diámetro medio de los gránulos secretorios de las somatotropas en ratones con baja dieta proteica. Además, Herbert (1980) describió en las lactotropas y gonadotropas de ratas machos malnutridas, menor extensión del RER-Golgi y un menor tamaño de los gránulos secretorios.

La nutrición es un factor importante en el desarrollo mental y, como consecuencia, en el rendimiento cognitivo. La malnutrición se refleja en el peso corporal, la altura de los niños y las curvas del IMC. Sandjaja y col. (2013) comunicaron relación entre los indicadores antropométricos y el rendimiento cognitivo en niños en edad escolar del sudeste asiático y observaron una marcada asociación entre malnutrición y coeficiente intelectual (CI) no verbal en niños de 6-12 años.

Alvarez y col. (2014) investigaron los efectos morfológicos de la malnutrición con deprivación nutricional en los días 2-15 postnatales en ratas, mostrando descenso en el volumen del hipocampo y en la densidad neuronal en el estrato piramidal de los subcampos CA1 y CA3, asociados a convulsiones recurrentes.

Concluyendo, la malnutrición determinó un descenso en el número de células adenohipofisarias (excepto las corticotropas) que es compatible con los cambios ultraestructurales indicadores de un posible patrón secretorio de hiperestimulación con RER dilatado, complejo de Golgi expandido, descenso del número de gránulos secretorios y alta actividad exocítica.

Referencias

- Agrogiannis GD et al. Insulin-like growth factors in embryonic and fetal growth and skeletal development (Review). *Mol Med Rep* 10(2):579-584, 2014.
- Brogan RS et al. Effects of food deprivation on the GH axis: immunocytochemical and molecular analysis. *Neuroendocrinology* 65(2):129-135, 1997.
- Bussey ME et al. Hypoglycemia in the newborn growth-retarded rat: delayed phosphoenolpyruvate carboxykinase induction despite increased glucagon availability. *Pediatr Res* 19(4):363-367, 1985.
- Cheek DB, Hill DE. Effect of growth hormone on cell and somatic growth. In Greep, Astwood, *Handbook of Physiology Endocrinology* 4, Waverley, Baltimore, 1974:159-183.
- Chermausek SD. Update: consequences of anormal fetal growth. *J Clin Endocrinol Metab* 97(3):689-695, 2012.
- Cónsole GM et al. Morphometric and ultrastructural analysis of different pituitary cell populations in undernourished monkeys. *Braz J Med Biol Res* 34(1):65-74, 2001a.
- Cónsole GM et al. Effect of undernutrition on cranial components and somatotroph-lactotroph pituitary populations in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus boliviensis*). *Cells Tissues Organs* 168(4):272-284, 2001b.
- Corner BD, Richstmeier JT. Cranial growth in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*): a quantitative analysis using threedimensional coordinate data. *Am J Phys Anthropol* 87(1):67-81, 1992.
- Dessi A, Ottonello T, Fanos V. Physiopathology of intrauterine growth retardation: from classic data to metabolomics. *J Matern Fetal Neonatal Med* 25(Suppl 5):13-18, 2012.
- Dressino V, Orden B, Oyhenart EE. Sexual responses to intrauterine stress: body and brain growth. *Clin Exp Obstet Gynecol* 29(2):100-102, 2002.
- Dressino V, Pucciarelli HM. Cranial growth in *Saimiri sciureus* (Cebidae) and its alteration by nutritional factors: a longitudinal study. *Am J Phys Anthropol* 102(4):545-554, 1997.
- Dressino V, Pucciarelli HM. Growth of the functional cranial components in *Saimiri sciureus boliviensis* (Cebidae): a longitudinal study. *Growth Dev Aging* 63(3):111-127, 1999.
- Falkner F, Holzgreve W, Schloo RH. Prenatal influences on postnatal growth: overview and pointers for needed research. *Eur J Clin Nutr (Suppl 1)*: S15-22, 1994.
- Fields HW. Craniofacial growth from infancy through adulthood. Background and clinical implications. *Pediatr Clin North Am* 38(5):1053-88, 1991.
- Fowden AL, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 127(5):515-526, 2004.
- Fowden AL et al. Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. *Early Hum Dev* 81(9):723-734, 2005.
- Frisk V, Amsel R, Whyte HE. The importance of head growth patterns in predicting the cognitive abilities and literacy skills of small-for-gestational-age children. *Dev Neuropsychol* 22(3):565-593, 2002.
- Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation 19(6):717-797, 1998.
- Gómez Dumm CL, Pucciarelli HM, Dressino V. Quantitative ultrastructural study of somatotrophic cells in malnourished weanling rats. *Acta Anat (Basel)* 129(3):200-202, 1987.
- Gómez Dumm CLA, Pucciarelli HM, Terreros MC. Effects of a low-protein diet on the ultrastructure of somatotroph cells in the rat. *Com Biol* 1(2):165-170, 1982.
- Hack M et al. Effect of very low birth weight and subnormal head size on cognitive abilities at school age. *N Engl J Med* 325(4):231-237, 1991.
- Hara M et al. Effects of a low-protein diet on prolactin- and growth hormone-producing cells in the rat pituitary gland. *Anat Rec* 251(1):37-43, 1998.
- Heindel JJ et al. Pituitary and testicular function in the restricted (Hre) rat. *Int J Androl* 11(4):313-326, 1988.

- Herbert DC. Morphology of the mammothrophs and gonadotrophs in the anterior pituitary gland of rats with protein-calorie malnutrition. *Am J Anat* 158 (4):521-531, 1980.
- Herbert DC, Carrillo AJ. The hypophyseal-adrenal axis in the protein-calorie malnourished rat. *Horm Metab Res* 14(4):205-207, 1982.
- Herbert DC et al. Quantitative morphological analysis of the pituitary gland in protein-calorie malnourished rats. *Anat Rec* 235(1):121-125, 1993.
- Houdijk EC et al. Endocrine regulation and extended follow up of longitudinal growth in intrauterine growth-retarded rats. *J Endocrinol* 166(3):599-608, 2000.
- Huizinga CT et al. Ligation of uterine artery and early postnatal food restriction - animal models for growth retardation. *Horm Res* 62(5):233-240, 2004.
- Huizinga CT et al. Persistent changes in somatostatin and neuropeptide Y mRNA levels but not in growth hormone-releasing hormone mRNA levels in adult rats after intrauterine growth retardation. *J Endocrinol* 168(2):273-281, 2001.
- Huizinga CT et al. Effects of intrauterine and early postnatal growth restriction on hypothalamic somatostatin gene expression in the rat. *Pediatr Res* 48(6):815-820, 2000.
- Imdad A, Yakoob MY, Siddiqui S, Bhutta ZA. Screening and triage of intrauterine growth restriction (IUGR) in general population and high risk pregnancies: a systematic review with a focus on reduction of IUGR related stillbirths. *Public Health* 11(Suppl 3):S1, 2011.
- Karlberg JP et al. The timing of early postnatal catch-up growth in normal, full-term infants born short for gestational age. *Horm Res* 48(Suppl 1):17-24, 1997.
- Klammt J et al. IGF signalling defects as causes of growth failure and IUGR. *Trends Endocrinol Metab* 19(6):197-205, 2008.
- Lanes R. Growth velocity, final height and bone mineral metabolism of short children treated long term with growth hormone. *Curr Pharm Biotechnol* 1(1):33-46, 2000.
- Lesage J et al. Perinatal maternal undernutrition programs the offspring hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Stress* 9(4):183-198, 2006.
- Mallard C et al. Reduced number of neurons in the hippocampus and the cerebellum in the postnatal guinea-pig following intrauterine growth-restriction. *Neuroscience* 100(2):327-333, 2000.
- Mallard C et al. Effects of chronic placental insufficiency on brain development in fetal sheep. *Pediatr Res* 43(2):262-270, 1998.
- Medvedev DI et al. The morphological state of the adenohipophyseal somatotrophs during body development under conditions of protein-energy insufficiency. *Aviakosm Ekolog Med* 29(3):28-31, 1995.
- Miller JP, German RZ. Protein malnutrition affects the growth trajectories of the craniofacial skeleton in rats. *J Nutr* 129(11):2061-69, 1999.
- Molon-Noblot S et al. The effects of ad libitum overfeeding and moderate and marked dietary restriction on age-related spontaneous pituitary gland pathology in Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 31(3):310-320, 2003.
- Ogata ES et al. Intrauterine growth retardation: altered hepatic energy and redox states in the fetal rat. *Pediatr Res* 27(1):56-63, 1990.
- Oyhenart EE et al. Bone growth and sexual dimorphism at birth in intrauterine-growth-retarded rats. *Anat Sci Int* 86(3):119-127, 2011.
- Oyhenart EE et al. Effects of bilateral uterine vessel ligation on skeletal growth in rats. *Clin Exp Obstet Gynecol* 29(2):121-125, 2002.
- Oyhenart EE et al. Influence of intrauterine blood supply on cranial growth and sexual dimorphism at birth. *Growth Dev Aging* 62(4):187-198, 1998.
- Oyhenart EE et al. Sexual dimorphism and postnatal growth of intrauterine growth retarded rats. *Growth Dev Aging* 67(2):73-83, 2003.
- Phillips LS. Nutrition, somatomedins, and the brain. *Metabolism* 35(1):78-87, 1986.
- Pimstone BL. Endocrine function in protein calorie malnutrition. *Clin Endocrinol (Oxf)* 5(1):79-95, 1976.

- Polkowska J, Krejci P, Snochowski M. The long-term effect of low protein diet on the somatostatin hypothalamic neuronal system and the pituitary growth hormone cells in growing ewe. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 104(1):59-66, 1996.
- Price DA et al. Serum somatomedin activity and cartilage metabolism in acutely fasted, chronically malnourished, and refed rats. *Endocrinology* 105(3):851-861, 1979.
- Pucciarelli HM et al. Sexual dimorphism in schoolchildren of the Villa IAPI neighborhood (Quilmes, Buenos Aires, Argentina). *Am J Phys Anthropol* 92(2):165-172, 1993.
- Pucciarelli HM, Dressino V, Niveiro MH. Changes in skull components of the squirrel monkey evoked by growth and nutrition: an experimental study. *Am J Phys Anthropol* 81(4):535-543, 1990.
- Pucciarelli HM, Dressino V. Ortocephalization on the postweaning squirrel monkey. *Am J Phys Anthropol* 101(2):173-181, 1996.
- Pucciarelli HM et al. Growth of skeletal components in the young squirrel monkey (*Saimiri sciureus boliviensis*): a longitudinal experiment. *Am J Phys Anthropol* 112(1):57-68, 2000.
- Pucciarelli HM. Growth of the functional components of the rat skull and its alteration by nutritional effects. A multivariate analysis. *Am J Phys Anthropol* 56(1):33-41, 1981.
- Quintero FA et al. Growth of functional cranial components in rats with intrauterine growth retardation after treatment with growth hormone. *Eur J Orthod* 34(6):710-718, 2012.
- Ramírez Rozzi FV et al. Cranial growth in normal and low-protein-fed *Saimiri*. An environmental heterochrony. *J Hum Evol* 49(4):515-535, 2005.
- Sandjaja Poh BK et al. Relationship between anthropometric indicators and cognitive performance in Southeast Asian school-age children. *Br J Nutr* 110 Suppl3:S57-64, 2013.
- Shimokawa I et al. Morphometric analysis of somatotrophs: effects of age and dietary restriction. *Neurobiol Aging* 17(1):79-86, 1996.
- Tannenbaum GS. Neuroendocrine control of growth hormone secretion. *Acta Paediatr Scand Suppl* 372:5-16, 1991.
- Tolsa CB et al. Early alteration of structural and functional brain development in premature infants born with intrauterine growth restriction. *Pediatr Res* 56(1):132-138, 2004.
- Vance ML et al. Growth hormone and nutrition. *Horm Res* 38 (Suppl1):85-88, 1992.

SÍNDROMES ASOCIADOS A ADENOMAS HIPOFISARIOS

14.1 Síndromes asociados a adenomas hipofisarios

- **Esporádico (95%):** GNAS, X-LAG, McCune Albright.
- **Familiar:** FIPA, MEN, Complejo de Carney, 3PA, blastoma hipofisario (fig. 14.1).

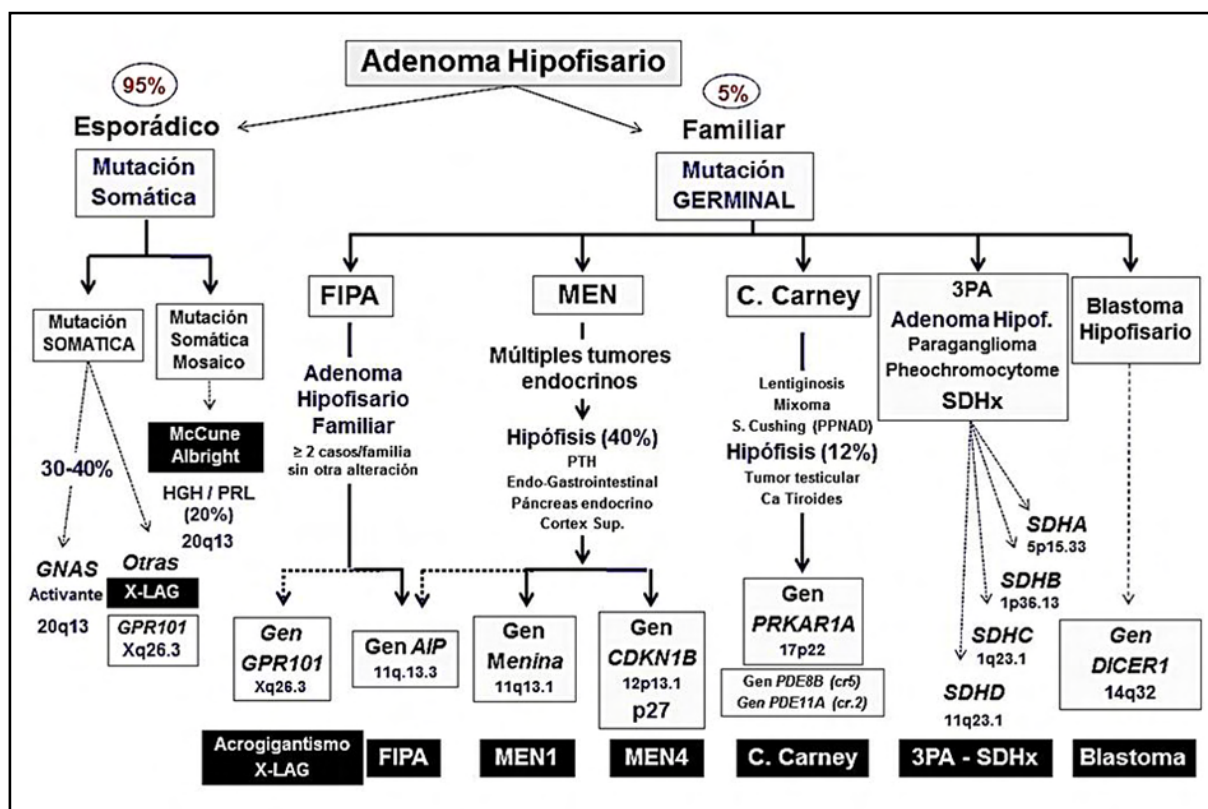


Fig. 14.1 Síndromes asociados a adenomas hipofisarios (Endocrinologiapediátrica).

Los adenomas hipofisarios son neoplasias intracraneanas benignas que presentan una sobreproducción de hormonas y/o los efectos de la masa tumoral. La mayoría ocurre de modo esporádico, sin embargo, cada vez se reconocen más casos familiares, como la **neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1)**, el **complejo de Carney (CNC)** y el **adenoma pituitario aislado familiar (FIPA)**. Los tumores hipofisarios familiares parecen diferir de sus homólogos esporádicos tanto en su base genética como en sus características clínicas. La evidencia sugiere que los tumores son más agresivos y afectan a los pacientes a una edad más temprana, lo

que justifica la importancia del diagnóstico precoz. Las alteraciones genéticas responsables de la formación de síndromes hipofisarios familiares incluyen el gen **MEN-1**, responsable de un 80% de los casos; la proteína quinasa A: **PRKAR1A**, responsable de un 70% de los casos del **complejo de Carney** y **AIP**, el gen que codifica la proteína que interactúa con el *receptor de aril hidrocarburo*, responsable de un 20% de los casos de **FIPA**. En raras ocasiones también se han encontrado otros genes responsables de los casos de adenoma hipofisario familiar. El síndrome de McCune-Albright (MAS) también tiene un origen genético debido a mutaciones en mosaico en la subunidad α acoplada a proteína G codificada por el gen **GNAS1** (Alband y Korbonits, 2014).

Un total de 63 pacientes con adenomas hipofisarios fueron identificados entre la población de estudio de 81.149, con una prevalencia de 77.6 casos/100.000. La distribución de cada subtipo: prolactinomas: 57%, adenomas hipofisarios no funcionantes: 28%, acromegalia: 11%, corticotropinoma: 2%. Se halló una prevalencia cuatro veces mayor de lo que se pensaba. Los datos confirman que los adenomas hipofisarios tienen una mayor carga en el sistema de salud y se necesita una distribución óptima de los recursos tanto para la atención clínica como para las actividades de investigación destinadas a mejorar las terapéuticas (Fernández y col., 2010).

Cada tipo de MEN está asociado con la aparición de tumores específicos. **MEN-1** se caracteriza por la aparición de *tumores de paratiroides, islotes pancreáticos e hipófisis anterior*. **MEN-2** presenta carcinoma medular de tiroides (MTC), asociado a feocromocitoma y tumores paratiroides. **MEN-3** se caracteriza por la aparición de MTC, y *feocromocitoma* en asociación con un hábito marfanoide, *neuromas de la mucosa, fibras corneales meduladas y disfunción del ganglio autónomo intestinal* (megacolon). **MEN-4**, se caracteriza por la aparición de *tumores de paratiroides y de la pituitaria anterior* en posible asociación con tumores de las glándulas suprarrenales, los riñones y los órganos reproductores (Thakker, 2014).

El nuevo tipo denominado **MEN4** que se debe a mutaciones en el gen **CDKN1B**, que codifica **p27kip1**, un inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina (**Cdk**) que regula la transición de las células de la fase G1 a la S (Marinoni y Pellegata, 2011).

14.2 FIPA: adenomas pituitarios aislados familiares

Los **FIPA** que no están asociados con **MEN-1** y **CNC** se han unido bajo este nuevo término introducido en la década de 1990. Aunque son raros, los **FIPA** constituyen un 5% de todos los adenomas hipofisarios y brindan una oportunidad para estudiar los mecanismos genéticos y moleculares heredados de la tumorigénesis hipofisaria. El **MEN-4** es extremadamente raro. Una comprensión integral de las características de los **FIPA** puede proporcionar una base para un diagnóstico temprano y un mejor manejo de los pacientes afectados (Vasilev y col., 2011). Los adenomas **FIPA** no funcionantes pueden ser adenomas de células nulas o formas silentes de corticotropinomas, gonadotropinomas o somatotropinomas (Villa, 2008 y 2011).

Se presentan en gente más joven de la misma familia. La mayoría son macroadenomas agresivos. Se describió un carcinoma pituitario (prolactinoma) en una familia **FIPA** (Petrossians y col., 2000). Los pacientes con *predisposición al adenoma pituitario (PAP)* presentaron mutaciones de la línea germinal en el gen **AIP**, situado en el cromosoma 11q13.3, actuando con retención citoplasmática de la forma latente del receptor (Vierimaa y col., 2006). Se observaron mutaciones de la línea germinal en el gen de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos de arilo (**AIP**) en pacientes **PAP**. La mayoría de los pacientes con mutación positiva han tenido somatotropinomas diagnosticados a edad temprana. Se analizaron 32 adenomas hipofisarios y otros 79 tumores del sistema endocrino en busca de mutaciones somáticas **AIP**. Se demostró que 2 de cada 9 pacientes con prolactinoma albergan una mutación fundadora finlandesa (Q14X) con una pérdida completa del alelo de tipo salvaje en los tumores. Las mutaciones de **AIP** no parecen jugar un rol destacado en la tumorigénesis pituitaria esporádica en esta población de sujetos (Raitila y col., 2007). Se sabe que 4 genes están asociados con *síndromes de tumores pituitarios familiares*: **MEN1**, **CDKN1B**, **PRKAR1A** y **AIP**. Los tres primeros genes están asociados con una variedad de patologías extrapituitarias, por ejemplo, hiperparatiroidismo primario con **MEN1**. Por el contrario, las mutaciones de **AIP** parecen ocurrir en el contexto de adenomas hipofisarios familiares aislados, particularmente del somatotropinoma (Elston y col., 2009).

FIPA es una enfermedad autosómica dominante con penetrancia incompleta, caracterizada por una enfermedad de inicio temprano, crecimiento tumoral a menudo agresivo y predominio de somatotropinomas y prolactinomas. En el 20% de las familias FIPA, se han descrito mutaciones heterocigóticas en el gen de interacción con el receptor de aril hidrocarburo (**AIP**) y se hizo una caracterización clínica, genética y molecular. (Chahal y col., 2010).

Los **FIPA** pueden presentarse con adenomas hipofisarios de cualquier tipo secretor/no secretor. Se han identificado mutaciones en el gen de la proteína que interactúa con el *receptor aril-hidrocarburo* (**AIP**) en un 20% de las familias FIPA y son la causa más frecuente (29%) de **gigantismo hipofisario**. Los tumores hipofisarios en **FIPA** son más grandes, ocurren a una edad más temprana y muestran características y evolución más agresivas que los adenomas esporádicos. Esta agresividad es especialmente marcada en familias **FIPA** con mutaciones **AIP**. Las duplicaciones en el cromosoma Xq26.3 que involucran al gen **GPR101** conducen al **acrogigantismo ligado al cromosoma X (X-LAG)**. El tratamiento de los adenomas hipofisarios **FIPA** con mutaciones de **AIP** y duplicaciones de **GPR101** suele ser más complejo que en la enfermedad esporádica debido a la enfermedad de inicio temprano, el crecimiento tumoral agresivo y la resistencia a la terapia médica (Vasilev y col., 2020a, 2020b).

Los adenomas hipofisarios ocurren en un entorno familiar en **MEN1/CNC** y son debidos a mutaciones en los genes **MEN1** y **PRKAR1A**, respectivamente. El *somatotropinoma familiar aislado (IFS)* también es un síndrome clínico que se relaciona solo con pacientes con **acrogigantismo**. Los adenomas hipofisarios de todos los tipos pueden ocurrir en un entorno familiar en ausencia de **MEN1/CNC**. Este fenotipo se denomina *adenomas hipofisarios familiares aislados (FIPA)*. La mayoría son casos aislados, pero su presentación puede ser familiar en el contexto de síndromes conocidos como la *neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN-1)* y el *complejo de Carney*. Cuando ocurren 2 o más casos de adenomas hipofisarios en la misma familia, en ausencia de los síndromes mencionados anteriormente, se hace un diagnóstico de **FIPA** que representa el 1-2% de todos los adenomas hipofisarios. Prácticamente todas las familias de **FIPA** contienen al menos un prolactinoma o somatotropinoma. Los pacientes **FIPA** son más jóvenes en el momento del diagnóstico y tienen adenomas hipofisarios grandes que sus homólogos de adenomas hipofisarios esporádicos. Una minoría de familias **FIPA** (15%) exhibe mutaciones en el gen de la proteína que interactúa con el *receptor de hidrocarburo de arilo (AIP)*. Las mutaciones de **AIP** están presentes en solo la mitad de las familias de **IFS** que ocurren como parte de la cohorte de FIPA. Las mutaciones de **AIP** son muy raras en pacientes con adenomas hipofisarios esporádicos (Beckers y Daly, 2007).

Las mutaciones de **AIP** ocurren en un 15% de las familias FIPA. Aunque los tumores hipofisarios que se presentan en asociación con mutaciones de **AIP** son predominantemente somatotropinomas, también se observan otros tipos de tumores (Daly y col., 2007; Fajardo-Montañana y col., 2009). Las mutaciones **AIP** (**AIPmut**) dan lugar a una predisposición a adenomas hipofisarios aislados familiares y con menos frecuencia a casos esporádicos. La población **AIPmut** era joven y a predominio masculino (63,5%). Los primeros síntomas ocurrieron en un 50% de niños/adolescentes. La mayoría de los tumores eran macroadenomas (93,3%) y la extensión/invasión eran comunes. Los somatotropinomas comprendieron el 78,1% de la cohorte; también hubo prolactinomas, adenomas no secretores y un tirotropinoma. Los somatotropinomas **AIPmut** fueron más grandes, con niveles más altos de GH, extensión más frecuente y cosecreción de PRL y ocurrieron 2 décadas antes que los controles. Los adenomas hipofisarios de **AIPmut** tienen características clínicas que pueden afectar la eficacia del tratamiento. La predisposición a enfermedad agresiva en pacientes jóvenes, a menudo en un entorno familiar, sugiere la necesidad de un diagnóstico temprano (Daly y col., 2010).

El *receptor de hidrocarburos arilo (AhR)* une a una variedad de compuestos endógenos y exógenos no relacionados. Se sugirió que la señalización de **AhR** también altera la expresión de genes involucrados en el metabolismo de la matriz, específicamente las *metaloproteinasas de la matriz (MMP)* que son críticas para los procesos de remodelación tisular y la progresión de una variedad de enfermedades. Las **MMP** degradan proteínas estructurales; son mediadores de la señalización a través de sitios críticos del plasmalema; liberan factores de crecimiento y escinden receptores (Hillegass y col., 2006).

Se han informado mutaciones de la línea germinal del gen de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos arilo (**AIP**) en el 15-40% de los pacientes con FIPA. Se describió gran cohorte de

familias FIPA y se caracterizaron mutaciones silenciosas. Los pacientes con AIP positiva tenían una edad media más baja en el momento del diagnóstico (23,6 +/- 11,2 años) que los pacientes con mutaciones AIP negativas (40,4 +/- 14,5 años).

La estimulación de la ruta de la proteína quinasa A regula positivamente el promotor de AIP. Las mutaciones silenciosas condujeron a un empalme anormal que dio como resultado una proteína truncada o una expresión reducida de AIP. Las mutaciones exónicas, promotoras, de sitio de empalme y de delección grande en AIP estuvieron implicadas en el 31% de las familias de nuestra cohorte FIPA (Igreja y col., 2010).

Los datos admiten un modelo en el que:

- 1) AIP se une tanto a hsp90 como a AhR.
- 2) se requiere hsp90 para la unión AhR-AIP.
- 3) la unión de AhR a AIP estabiliza el complejo AIP-hsp90-AhR.

Los compuestos dioxínicos interaccionan con el receptor AHR del que son agonistas, promoviendo su translocación al núcleo, donde se dimeriza con una proteína nuclear translocadora específica: ARNT. El complejo ARNT-AHR funciona como un factor de transcripción, regulando la expresión de genes relacionados con la respuesta a agentes tóxicos. El *receptor de dioxinas* (DR) es un factor de transcripción que al unirse al ligando, se transloca al núcleo, donde forma un complejo con la proteína asociada ARNT para formar un heterodímero que activa la transcripción de genes diana involucrados en el metabolismo xenobiótico. Se evidenció que el XAP2 actúa en la señalización de DR y la proteína de hsp70 de *ubiquitina ligasa* (CHIP) interactúa en la degradación de DR. En ausencia de ligando, AHR es secuestrado en el compartimiento citosólico donde se halla unido a Hsp90, p23 y AIP (Bell y col., 2000; Lees y col., 2003).

Barlier y col. (2007) realizaron un cribado completo de la secuencia de codificación de la AIP para evaluar la presencia de mutaciones somáticas y de la línea germinal en pacientes con tumores hipofisarios esporádicos. Concluyeron afirmando que las mutaciones de AIP no parecen jugar un rol destacado en la tumorigénesis pituitaria esporádica. La *survivina* es un miembro multifuncional de la familia IAP (inhibidor de la apoptosis) que carece solo de Asp (142), no se une a AIP y exhibe una degradación en una reacción que es revertida por un inhibidor del proteasoma. La eliminación aguda de AIP por el ARN de interferencia corto o la competencia del complejo de *survivina*-AIP desestabiliza los niveles de *survivina*, con un aumento de la *apoptosis*. El AIP interacciona con *survivina*, promueve su estabilización y facilita la prevención de la apoptosis (Kang y Altieri, 2006).

Las mutaciones que afectan a AIP, desestabilizan a AHR y facilitan su translocación nuclear con activación de genes que promueven la proliferación celular (Vierimaa y col., 2006). Los niveles de inmunotinción de AIP demostraron ser un predictor útil del estado de AIP: 75% de sensibilidad y 95% de especificidad para mutaciones de la línea germinal. El 15 de los pacientes presentó 10 mutaciones diferentes de AIP con 3 nuevas mutaciones: Q142X, Q217X, Q239X, R304X. En este estudio multinacional se identificaron 9 nuevas mutaciones de AIP. Solo el 50% de las familias con FIPA homogéneas con *acromegalia* presentaron mutaciones de AIP. Se identificaron otras 9 mutaciones de línea germinal en 460 pacientes (jóvenes con acromegalia, acromegálicos sin seleccionar, pacientes con adenomas hipofisarios esporádicos y con mutaciones NEM1 negativas). En términos de IHQ, los pacientes con acromegalia pueden ser positivos para GH únicamente (59%), GH-PRL (33%) o GH-folotropina (8%). La información mutacional puede tener valor intrafamiliar, pero de ningún modo universal (Georgitsi y col., 2007).

Las mutaciones de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos arilo (AIP) (AIPmut) causan adenomas hipofisarios agresivos en pacientes jóvenes, generalmente en el contexto de adenomas hipofisarios familiares aislados. La línea germinal AIPmut ocurre en el 11,7% de los pacientes < 30 años con macroadenomas hipofisarios esporádicos y en el 20,5% de los pacientes pediátricos. Se deben considerar las pruebas de mutación de AIPmut en esta población para optimizar la investigación y el manejo genéticos clínicos (Tichomirowa y col., 2011).

Se realizaron estudios genéticos a 122 pacientes de 6 generaciones a fin de identificar portadores de la mutación E174fs. De los 10 portadores de la mutación AIP de la línea germinal, 3 tenían tumores hipofi-

sarios (2 con acromegalia con mala respuesta al octreótido y 1 con tumor mixto GH-PRL), mientras que 7 eran portadores asintomáticos. La IHQ de AIP tumoral del paciente operado mostró una expresión disminuida en comparación con el tejido normal. La penetrancia de los tumores hipofisarios en sujetos adultos con mutación AIP positiva fue del 33,3%, mientras que las características clínicas/hormonales fueron variables (Naves y col., 2007).

La mayoría de los pacientes con adenomas hipofisarios aislados familiares con el gen de la proteína que interactúa con el receptor de aril hidrocarburo mutado (AIP: HGNC: 358) desarrollan somatotropinomas. Se caracterizan por un fenotipo clínico agresivo que incluye un diagnóstico en edad temprana, macroadenomas e invasividad frecuente. Las mutaciones de la línea germinal de AIP muestran una prevalencia baja, pero no despreciable, en pacientes con acromegalia no familiar con tumores resistentes al tratamiento con análogos de somatostatina. Se estudiaron 50 pacientes con acromegalia (edad 51 ± 18 años). Las mutaciones de la línea germinal de AIP muestran una prevalencia baja, pero no despreciable, en pacientes con acromegalia no familiar con tumores resistentes al tratamiento con análogos de somatostatina (Oriola y col., 2012).

Los adenomas hipofisarios son uno de los tumores intracraneales más frecuentes y ocurren con una prevalencia de 1:1000. Las familias FIPA comprenden un 2-5% de los adenomas hipofisarios. Se identificó que el gen de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos arilo causa una predisposición al adenoma hipofisario de penetrancia variable que representa el 20% de las familias FIPA. Las mutaciones de la línea germinal AIP se asocian con la aparición de macroadenomas hipofisarios que se presentan a una edad temprana (niños, adolescentes y adultos jóvenes). El *gigantismo* es una característica particular de las mutaciones de AIP y ocurre en más de un tercio de los pacientes afectados de somatotropinoma (Beckers y col., 2013) (fig. 14.2).

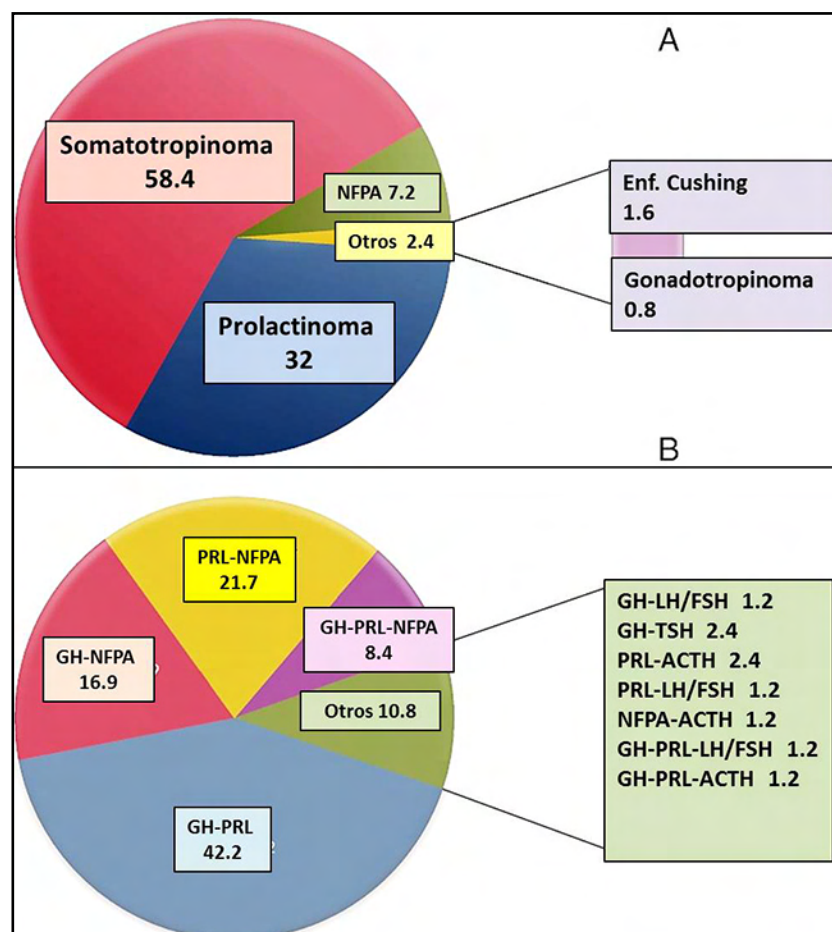


Fig. 14.2 AB. Proporciones de 211 familias FIPA con presentación homogénea (A) o heterogénea (B) de adenomas hipofisarios en la misma familia (Beckers y col., 2013). GH: somatotropinoma. PRL: prolactinoma. ACTH: enfermedad de Cushing. LH/FSH: gonadotropinomas. TSH: tirotropinomas.

Fig. 14.3: pérdida de AIP en un somatotropinoma familiar.

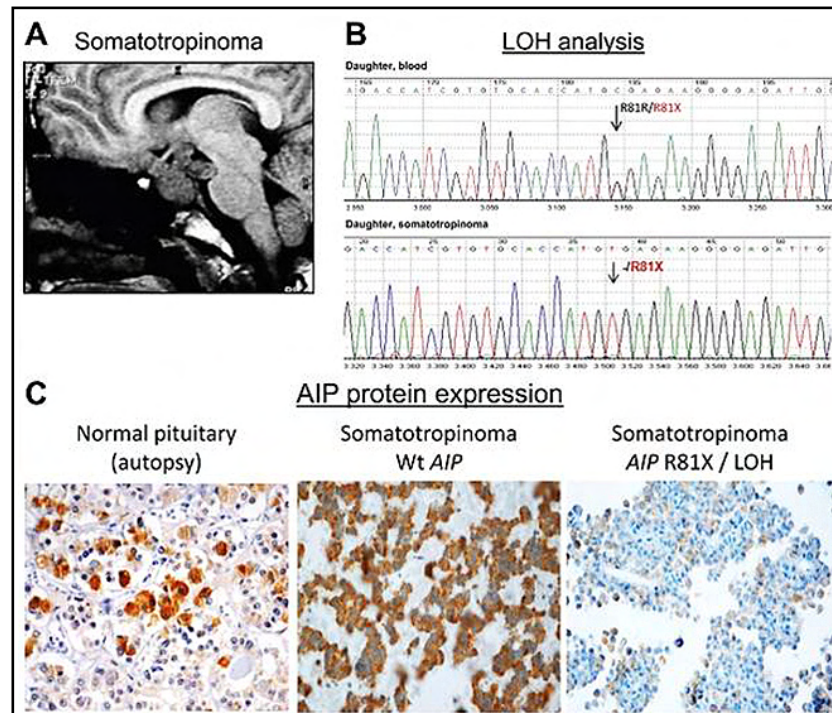


Fig. 14.3 Somatotropinoma familiar (Toledo, 2010).

A. La resonancia magnética de la hija del paciente reveló un somatotropinoma invasivo de gran tamaño resistente al tratamiento con un análogo de la somatostatina. Heredó la mutación de la línea germinal heterocigota **R81X AIP**. **B.** El análisis de secuencia de **AIP** en muestras de ADN tumoral reveló que solo el alelo (t) mutado en **R81X** presente en el somatotropinoma, lo que indica pérdida somática e inactivación de **AIP** de tipo salvaje. **C.** El análisis inmunohistoquímico mostró expresión de la proteína **AIP** en la hipófisis normal y en un somatotropinoma secretor de GH de un paciente con acromegalia esporádica sin mutación **AIP**.

El adenoma hipofisario aislado familiar (FIPA) se presenta en familias y no está relacionado con MEN1 y CNC. Las mutaciones en **AIP** representan solo el 15-25% de las familias FIPA. Las mutaciones **CDKN1B** causan MEN4 en el que los pacientes afectados pueden sufrir adenomas hipofisarios. Se evaluaron las mutaciones en **CDKN1B** en una gran cohorte de familias FIPA con mutaciones negativas de **AIP**. Se estudiaron 88 familias de FIPA con mutaciones negativas de **AIP** y 124 pacientes se sometieron a secuenciación de **CDKN1B**. Dos pacientes tuvieron cambios en la secuencia de la línea germinal en **CDKN1B**, lo que provocó alteraciones funcionales en las proteínas **p27** codificadas *in vitro*. Estas variantes raras de **CDKN1B** pueden contribuir al desarrollo de adenomas hipofisarios, pero su baja incidencia y la falta de una clara segregación con los pacientes afectados hacen que la secuenciación de **CDKN1B** sea poco probable y de poca utilidad en la investigación genética de rutina de las familias FIPA (Tichomirowa y col., 2012).

14.3 Síndrome neoplasia endocrina múltiple: MEN

14.3.1 Síndrome MEN-1: neoplasia endocrina múltiple tipo 1.

Fig. 14.4 se observa la molécula que el gen codifica como la proteína nuclear **menina**.



Fig. 14.4 Molécula de menina (qaz.wiki).

Se comunicó la expresión de **menina** en varias etapas del *ciclo celular* en la línea GH4C1. Las células sincronizadas en el límite de la fase G1-S expresaron menina a un nivel más bajo que las células sincronizadas con G0-G1. La expresión de menina aumentó a medida que las células entraron en la fase S. Por el contrario, las células sincronizadas en la fase G2-M expresaron niveles más bajos de menina. En las fases G0-G1, G1-S y G2-M del ciclo celular, la menina se encontró en el núcleo. Los datos sugieren que la menina tiene un papel importante en la regulación del crecimiento celular (Kaji y col., 1999).

En las **figs. 14.5-14.7** se ven los componentes del MEN-1 y MEN-2A/2B.

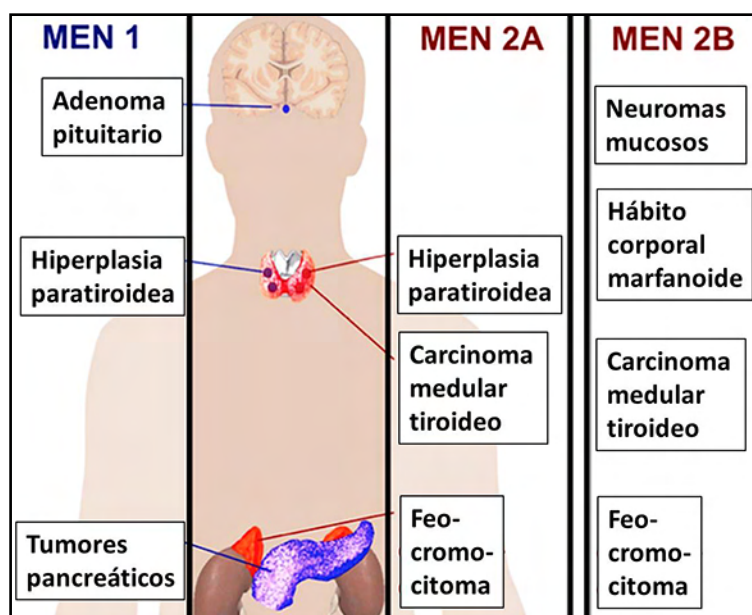


Fig. 14.5 MEN-1 (Medical Junction).

La **figura 14.6** muestra los tumores del MEN-1:

- a. Adenoma paratiroideo (90%).
- b. Tumor entero-pancreático: gastrinoma (40%), insulinoma (10%), glucagonoma (< 1 %).
- c. Adenoma hipofisario (30-40%): prolactinoma (20%), somatotropinoma (10%).
- d. Tumores asociados: tumor adrenal cortical (40%), feocromocitoma (< 1%), lipomas (30%), angiofibromas faciales (85%), colagenomas (70%), meningiomas (8%).

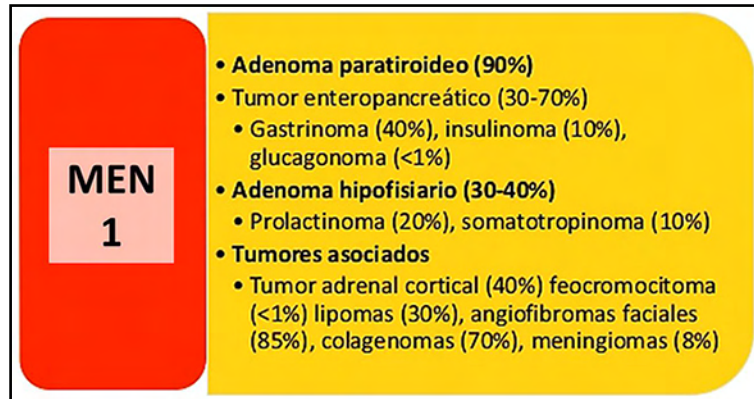


Fig. 14.6 MEN-1 (Slideshare).

El MEN-1 se hereda como rasgo autosómico dominante. Se debe a mutaciones del gen supresor tumoral MEN-1 ubicado en el cromosoma 11q13 (fig. 14.7).

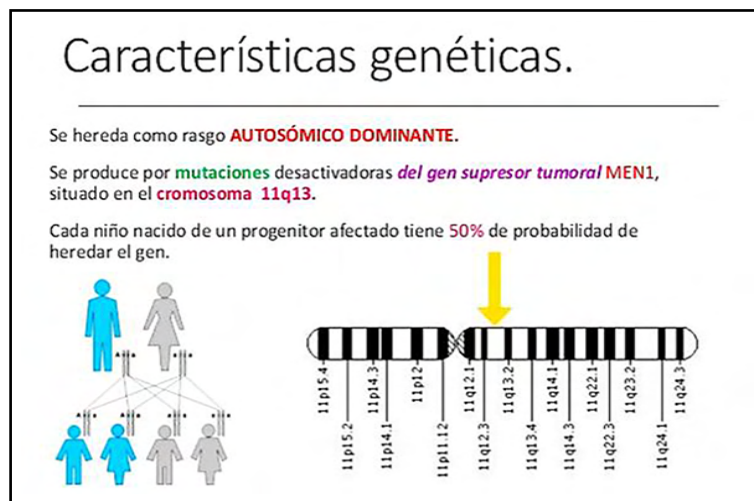


Fig. 14.7 Características genéticas del MEN-1 (Slideshare).

Los tumores hipofisarios del MEN-1 son similares a los que ocurren de modo esporádico. El mayor porcentaje son *prolactinomas* no secretores y un 10% son **somatotropinomas**. Por el contrario, los tipos de tumores en complejo de Carney (CNC) y en IFS son *somatotropinomas*. Cada síndrome familiar está asociado con un gen supresor tumoral que se reconoció por una pérdida de heterocigosidad en el **cromosoma 11q13** en MEN-1 e IFS y en el **cromosoma 17q** en CNC. El **gen MEN-1** codifica para la proteína nuclear **menina**. El gen asociado con el CNC codifica la **PRKARIA**, cuya inactivación conduce a una mayor actividad de la vía de transducción inducida por la hormona liberadora de GH (**GHRH**), con efectos proliferativos en las somatotropas. El gen asociado a IFS es distinto del gen MEN-1, aunque está ubicado muy cerca y está contenido en una región candidata de 10 Mb. La identificación del gen de IFS proporcionaría una nueva comprensión de la patogenia de los somatotropinomas, no solo en IFS, sino también en tumores esporádicos, donde hay una pérdida alélica de hasta un 40% en el cromosoma 11q13 (Frohman y Eguchi, 2004).

El gen MEN1, identificado en 1997, consta de 10 exones que codifican una proteína de 610 aminoácidos denominada **menina** que es una proteína nuclear con funciones en la regulación transcripcional, la

estabilidad del genoma, la división celular y la proliferación. Las mutaciones de la línea germinal suelen dar lugar a MEN1 u ocasionalmente a una variante alélica denominada hiperparatiroidismo familiar aislado. Los tumores MEN1 con frecuencia tienen pérdida de heterocigosidad (LOH) del locus MEN1, lo que concuerda con la función supresora de tumores de MEN1. Además, se han informado anomalías somáticas de MEN1 en tumores endocrinos MEN1 y no MEN1. La mayoría (> 70%) de las mutaciones conducirán a formas truncadas de menina. La comparación de las características clínicas en pacientes y sus familias con las mismas mutaciones revela una ausencia de correlaciones fenotipo-genotipo (Lemos y Thakker, 2008).

En el MEN1 se comunicó una variante de prolactinoma o variante de Burin de MEN1 en 3 familias, con más prolactinomas y menos gastrinomas que MEN1 típico. Los tumores MEN1 se diferencian de los tumores comunes al mostrar características del gen MEN1 (ej.: macroadenomas). El gen MEN1 muestra inactivación bialélica en el 30% de algunos tipos de tumores endocrinos de variedad común, pero solo en el 1-5% de los tumores hipofisarios comunes. La eliminación heterocigótica de MEN1 en ratones proporciona un modelo sólido y se descubrió que respalda la investigación sobre la terapia anti-angiogénesis para tumores hipofisarios (Agarwal y col., 2009).

Un estudio examinó los efectos de la **menina** en la expresión de PRL (**hPRL**). En células GH3 pituitarias de rata que expresan de manera estable menina, se inhibieron tanto la expresión/secreción del gen PRL como la incorporación de timidina en el ADN en comparación con las células transfectadas de forma simulada. La actividad transcripcional del promotor PRL en células GH3 cotransfectadas con menina disminuyó de manera significativa. Se introdujo en la menina una mutación por delección (569 delC). Cuando se transfectaron células GH3 con un vector de expresión de menina mutante, la inhibición de la actividad promotora de hPRL se invirtió parcialmente. Estas observaciones sugieren que la menina inhibe la actividad del promotor de hPRL y la proliferación celular, lo que plantea la posibilidad de que la menina pueda desempeñar un papel importante en la tumorigénesis del prolactinoma (Namihira y col., 2002).

En el MEN1 se comunicó una prevalencia del 4,8% de *hiperparatiroidismo primario* y del 14,3% de *prolactinomas*. En la mayoría de los pacientes, el diagnóstico de tumores hipofisarios se realizó varios años antes que el de hiperparatiroidismo. Aunque se creía que los pacientes albergaban un tumor hipofisario esporádico, la mayoría de ellos había tenido signos y/o síntomas atribuibles a uno o ambos de los otros órganos implicados en la MEN 1, a menudo de forma concomitante con los tumores hipofisarios. Estos datos indican que el diagnóstico del síndrome de MEN 1 pasa por alto una proporción sustancial de pacientes con prolactinomas y se recomienda la detección del síndrome (Corbetta y col., 1997).

En una serie de 1.500 adenomas hipofisarios, un 2,7% ocurrieron en el contexto de MEN-I. De 40 pacientes el 52% presentaron evidencia clínica de una neoplasia hipofisaria. Un 27% fueron microadenomas y un 73% fueron macroadenomas. Los estudios IHQ demostraron: GH (4), GH/PRL (6), GH/PRL/glicoproteína (7), GH/ACTH/glicoproteína (1), PRL (16), PRL/TSH (1), ACTH (3) y adenoma de células nulas (3). Los adenomas hipofisarios asociados a MEN-I son con mayor frecuencia funcionantes y secretores GH o PRL (Scheithauer y col., 1987). El *somatotropinoma familiar aislado (IFS)* es un síndrome clínico que se relaciona solo con pacientes con *acrogigantismo*. En el estudio se halló un 75% de adenomas hipofisarios de los pacientes con síndrome **FIPA** (predominio femenino) que fueron: 30% somatotropinomas y 41% prolactinomas. El 75% de los pacientes tuvieron una relación parental de primer grado entre ellos, aunque también existieron casos con relación parental de segundo o tercer grado. Los macroadenomas fueron más frecuentes en familias FIPA heterogéneas respecto a familias homogéneas. Se registraron: adenomas: no funcionantes (15%), lactosomatotropinomas (6%), corticotropinomas (3%), tirotropinomas (0,5%), gonadotropinomas (2%) y plurihormonales (2%) (Daly y col., 2005; 2006).

El gen de la neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1) es un gen supresor de tumores que codifica una proteína nuclear de 610 aminoácidos: la **menina**. Los datos sugieren que las interacciones entre la menina y las proteínas que interactúan con la menina tienen un papel en la regulación fisiológica del crecimiento celular, el control del ciclo celular y la estabilidad del genoma, siendo potencialmente importantes en el desarrollo óseo y la diferenciación de células madre mesenquimáticas multipotentes. La pérdida de dichas interacciones también podría contribuir al desarrollo del síndrome MEN 1 (Balogh y col., 2006).

Para estudiar la tumorigénesis relacionada con el síndrome MEN1, se generaron ratones knockout Men1. Los ratones homocigotos mueren en el útero en los días 11,5-12,5e, mientras que los ratones

heterocigotos desarrollan características notablemente similares a las del MEN1. Todos los tumores desarrollados mostraron pérdida del alelo Men1 de tipo salvaje, lo que respalda aún más su función como gen supresor de tumores (Crabtree y col., 2001). Otro grupo desarrolló ratones mutantes heterocigotos Men1 que originaron tumores endocrinos similares a los del MEN1. En estos ratones también se observaron alteraciones hormonales, como niveles anormales de insulina y PTH. Los tumores se asociaron con la pérdida de heterocigosidad del alelo Men1 de tipo salvaje, lo que sugiere que la menina participa en la supresión del desarrollo de estos tumores endocrinos. Los ratones mutantes de Men1 heterocigotos constituyen un modelo adecuado para el estudio del MEN1 (Bertolino y col., 2003).

Los pacientes afectados por MEN1 presentan una alta incidencia de adenomas hipofisarios, aunque aún se desconoce si estos tumores hipofisarios tienen características patológicas específicas que los distinguirían de los adenomas hipofisarios esporádicos. Se compararon muestras de tejido hipofisario de 77 pacientes con MEN1 (Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines) con 2.509 tumores hipofisarios esporádicos no MEN1 no seleccionados y también con un subgrupo de control de 296 casos, donde 1 tumor MEN1 se emparejó con 4 tumores esporádicos tumores del mismo inmunoperfil hormonal. El análisis histopatológico tuvo en cuenta: datos inmunocitoquímicos, marcador proliferativo Ki-67 y un examen de la hipófisis yuxtatumoral. Los tumores MEN1 eran más grandes y más a menudo invasivos. Los pacientes con MEN1 con tumores pituitarios grandes (grado IV) eran más jóvenes que los pacientes sin MEN1. Los adenomas plurihormonales vs los adenomas monohormonales y no inmunorreactivos fueron más frecuentes en los tumores MEN1 (39%) que en el grupo de control sin MEN1. La plurihormonalidad de la GH/PRL respecto a una asociación inusual con FSH/LH o ACTH fue más frecuente en los tumores MEN1. La hiperplasia somatotropa, con o sin microadenoma se encontró en solo 3 pacientes con MEN1, con hipersecreción de GHRH por un tumor pancreático en 2 de ellos. Se observaron todos los tipos de mutación, incluidos cambios de marco, sinsentidos, errores de sentido y 1 caso de MEN1 de la línea germinal que abarcaba una deleción grande, lo que sugiere fuertemente la ausencia de cualquier correlación fenotipo-genotipo (Trouillas y col., 2008).

Se hizo un estudio internacional, multicéntrico y retrospectivo para caracterizar una serie de pacientes con *gigantismo hipofisario*. Se incluyeron 208 pacientes (163 hombres; 78,4% con exceso de GH). Las mutaciones de AIP ocurrieron en el 29%; la microduplicación en Xq26.3-acrogigantismo ligado al cromosoma X (X-LAG) se presentó en 2 parientes familiares de adenoma pituitario aislado y en 10 pacientes esporádicos. Los pacientes con mutación AIP y X-LAG eran más jóvenes, pero el control de la enfermedad fue peor en los casos de genética negativa. Los pacientes con gigantismo hipofisario fueron macroadenomas a predominio masculino (Rostomyan y col., 2015) (fig. 14.8).

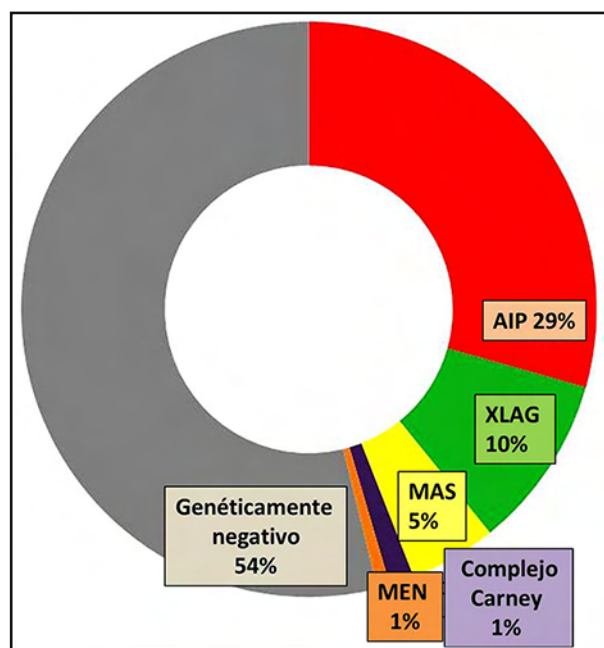


Fig. 14.8 Resultados genéticos en la población de estudio (Rostomyan, 2015).

Aunque la mayoría de los adenomas hipofisarios ocurren esporádicamente, estos tumores comunes pueden presentarse en un entorno familiar en aproximadamente el 5% de los casos. Las mutaciones de la línea germinal en varios genes con herencia autosómica dominante (**AIP**, **MEN1**, **CDKN1B**, **PRKAR1A**, **SDHx**) o dominante ligada al cromosoma X (**GPR101**) son la causa de los adenomas hipofisarios familiares. Debido a la penetrancia variable de la enfermedad y la aparición de mutaciones, algunos pacientes que albergan mutaciones de la línea germinal no tienen antecedentes familiares de adenomas hipofisarios. Hasta el 12% de los pacientes con adenomas hipofisarios de inicio joven (edad al diagnóstico/inicio ≤ 30 años) y hasta el 25% de los pacientes simplex con *gigantismo* portan mutaciones en el gen **AIP**, mientras que la mayoría de los casos de *acrogigantismo ligado al cromosoma X (XLAG)* se deben a la duplicación de **GPR101** son pacientes de sexo femenino con temprano inicio de la enfermedad (< 5 años). Con respecto a los síndromes **MEN**, las mutaciones de **MEN-1** pueden identificarse en una proporción significativa de pacientes con prolactinomas de inicio en la niñez. Los somatotropinomas y prolactinomas son los adenomas más comunes asociados con mutaciones predisponentes de la línea germinal. Se debe considerar el cribado genético en pacientes con adenomas hipofisarios de inicio joven (Iacovazzo y col., 2017).

El **MEN** que codifica **menina** se caracteriza por la aparición de tumores en paratiroides, pituitaria y a nivel pancreático-duodenal. El gen **MEN1** muestra inactivación bialélica en el 30% de algunos tipos de tumores endocrinos de variedad común (Ej., Adenoma paratiroideo, gastrinoma, insulinoma y carcinoide bronquial), pero solo en 1-5% de los tumores hipofisarios comunes. Los tumores **MEN1** se diferencian de los tumores pituitarios comunes porque presentan mayor tamaño y multiplicidad tumoral (Agarwal y col., 2009).

La **menina** funciona en múltiples procesos biológicos: proliferación celular, migración, expresión génica y reparación del daño del ADN. El **MEN1** es un gen supresor tumoral. Las mutaciones dentro de **MEN1** también pueden heredarse (línea germinal). Muchas de estas mutaciones hereditarias se asocian con varios síndromes de la paratiroides y del páncreas y algunas también predisponen a la hiperplasia. En este estudio se han catalogado las mutaciones de la línea germinal y se compararon con las mutaciones somáticas detectadas en cánceres de la base de datos del Catálogo de mutaciones somáticas en cáncer. Luego se utilizó un software estadístico para determinar la probabilidad de que las mutaciones sean patógenas o impulsoras. Se demostró que muchas mutaciones de la línea germinal confirmadas no aparecen en las muestras de tumores. Por tanto, la mayoría de las mutaciones que inhabilitan la función de **MEN1** en los tumores son de naturaleza somática. Además, de las mutaciones de la línea germinal que aparecen en los tumores, solo una fracción tiene el potencial de ser mutaciones patógenas o conductoras (Nelakurti y col., 2020).

Los defectos genéticos tumorales en **USP8**, **GNAS**, **USP48** y **BRAF** representan algunos de los cambios específicos de tejido que se encuentran comúnmente y pueden explicar un buen porcentaje de los tumores desarrollados. Los cambios genómicos somáticos a nivel tumoral, las variaciones en el número de copias (CNV), las modificaciones epigenéticas y la expresión diferencial de los miARN se suman al fondo genético variable de los adenomas pituitarios (Tatsi y Stratakis, 2019).

La delección del *receptor aril (AHR)* asociado a la proteína (chaperona) **XAP2** indujo malformaciones cardiovasculares y letalidad embrionaria. Los ratones con una delección homocigótica de este gen mueren durante el desarrollo embrionario, mientras que los heterocigotos muestran un fenotipo normal y fértil (Lin y col., 2007).

El descenso de **AIP** y **AHR** puede estar involucrado con la agresividad de los somatotropinomas que presentaron altos índices de proliferación, duplicando a los adenomas hipofisarios no mutados (6 a 10%) (Jaffrain-Rea y col., 2009).

La evaluación funcional de las mutaciones de **AIP** es consistente con un papel supresor tumoral del **AIP** y su participación en la acromegalia familiar. Los somatotropinomas **AIP** mutados presentan un mayor porcentaje del patrón escasamente granulado, lo que se asocia a peor respuesta a la terapia con análogos de somatostatina. La expresión anormal y la localización subcelular de **AIP** en adenomas hipofisarios esporádicos indican una regulación alterada de esta proteína durante la tumorigénesis (Leontiou y col., 2008).

El **AIP** es el mejor marcador de *invasividad* en los *somatotropinomas* respecto a Ki-67 y p53. Se observó una baja expresión de **AIP** en somatotropinomas invasivos, en contraste con una alta expresión de **AIP**. También se comunicó que una elevada expresión de **AIP** en somatotropinomas es un buen predictor de respuesta a la terapia con análogos de la somatostatina (Kasuki y col., 2011 y 2012).

Las mutaciones de **AIP** (**AIPmut**) dan lugar a una predisposición a adenomas pituitarios aislados familiares y, con menos frecuencia, a casos esporádicos. Los adenomas hipofisarios de **AIPmut** tienen características clínicas que pueden afectar la eficacia del tratamiento. La población **AIPmut** fue mayor en pacientes jóvenes masculinos (63,5%). En el momento del diagnóstico, la mayoría de los tumores fueron macroadenomas (93,3%), con alta inmunomarcación de Ki-67 y marcada extensión/invasión (Daly y col., 2010).

Chahal y col. (2012) analizaron la relación entre la presencia de mutaciones de **AIP** y una particular expresión de receptores de somatostatina, no hallando ninguna correlación entre ambas variables, aunque los somatotropinomas mutados mostraron tendencia a una mayor densidad del receptor de somatostatina 5 (**SSTR5**), clásicamente asociada a peor respuesta. Estos resultados sugieren que la **AIP** puede desempeñar un rol en el mecanismo de acción de los análogos de somatostatina a través de la vía de señalización **ZAC1** en somatotropinomas esporádicos y puede explicar su falta de efectividad en pacientes con mutaciones de **AIP**.

En animales transgénicos y expresión de una proteína **AIP** truncada, se demostró también que los animales homocigotos presentan una elevada letalidad embrionaria, mientras que en los heterocigotos se ve una marcada tendencia al desarrollo de adenomas hipofisarios de alta penetrancia. El análisis Ki-67 indicó que los tumores deficientes en **AIP** tienen tasas de proliferación más altas en comparación con los tumores con **AIP**, lo que sugiere una enfermedad más agresiva. El ratón **Aip** (+/-) es un buen modelo para estudiar la tumorigénesis hipofisaria (Raitila y col., 2010) (figs. 14.9-14.10).

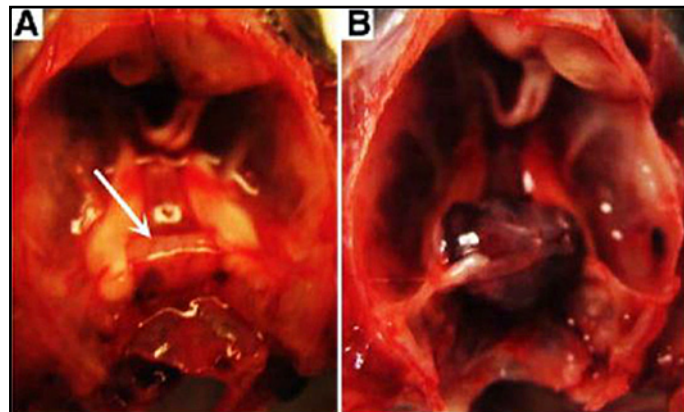


Fig. 14.9 Glándula pituitaria normal (flecha blanca) e hipófisis con macroadenoma.

R: La glándula pituitaria normal de un ratón de tipo salvaje. B: macroadenoma de un ratón *Aip*^{+/-} heterocigoto (Raitila y col., 2010).

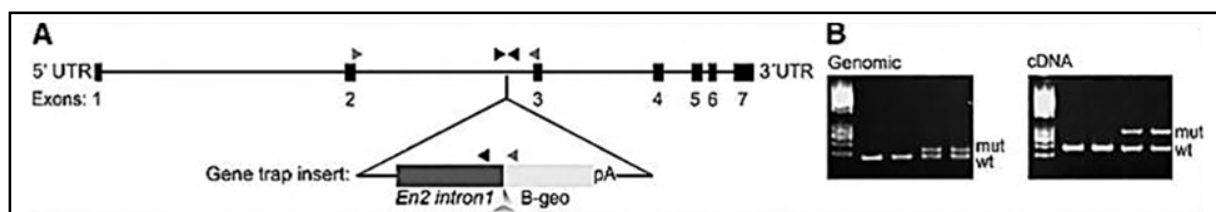


Fig. 14.10 Construcción-validación de ratones deficientes en **AIP** (Raitila y col., 2010).

A: Estructura genómica de **AIP** y la construcción de vector trampa de genes insertada en el intrón entre los exones 2 y 3. El triángulo representa el sitio aceptor de empalme después de la secuencia del intrón 1 de **En2** de ratón. **B-geo** es un gen de fusión de β-galactosidasa y neomicina y **pA** es una señal de poliadenilación. Las puntas de flecha negras designan cebadores de PCR genómicos y las puntas de flecha grises designan cebadores de PCR de ADNc. **B:** Resultados de la genotipificación por PCR genómica y de ADNc con bandas wt (tipo salvaje) y mut (mutante).

En la **figura 14.11** se observa inmunotinción de GH, PRL y AIP.

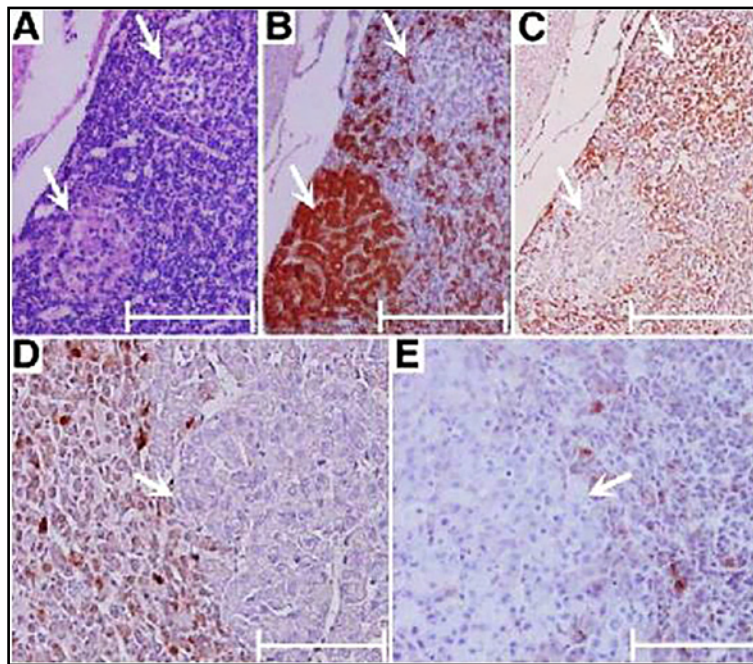


Fig. 14.11 Inmunotinción de GH, PRL y AIP (Raitila y col., 2010).

A: tinción H-E de una glándula pituitaria con dos adenomas hipofisarios.

B: inmunotinción de GH; un tumor pituitario GH positivo y otro GH negativo observado en la pars distalis de un ratón *Aip^{+/-}* heterocigoto.

C: inmunohistoquímica PRL de las lesiones correspondientes.

Tinción AIP negativa de adenomas GH-positivos (**D**) y PRL-positivos (**E**) de un ratón *Aip^{+/-}*.

Los tumores están representados por flechas blancas.

14.3.2 Síndrome MEN-4: neoplasia endocrina múltiple tipo 4

Una variante de los síndromes de MEN surgió espontáneamente en una colonia de ratas y se denominó **MENX**. Los animales afectados desarrollan múltiples tumores endocrinos, con un espectro que comparte características con los síndromes humanos **MEN1** y **MEN2**. Los estudios genéticos identificaron una mutación de la línea germinal en el gen **CDKN1B**, que codifica el inhibidor del ciclo celular p27, como la mutación causante de **MENX**. Las mutaciones heterocigotas de la línea germinal en el homólogo humano, se identificaron en pacientes con múltiples tumores endocrinos. Como consecuencia de este descubrimiento, se reconoció un nuevo síndrome de MEN humano, denominado **MEN-4**, que está causado por mutaciones en **p27**. Estos estudios identificaron a **CDKN1B** como un nuevo gen de susceptibilidad a tumores para múltiples tumores endocrinos tanto en ratas como en humanos (Pellegata, 2012).

Los pacientes con **MEN-4** portan mutaciones heterocigóticas en varios residuos de **p27Kip1** y presentan adenomas paratiroideos e hipofisarios. También se identificaron mutaciones de la línea germinal en **p27kip1** en pacientes con una presentación esporádica de enfermedad paratiroidea (Lee y Pellegata, 2013).

El gen **CDKN1B** que codifica el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina **p27 (KIP1)**, un supresor de tumores atípico, desempeña un papel clave en la regulación del ciclo celular, la proliferación y diferenciación celular. En este estudio, se identificó una delección de 4 pb en un ORF ascendente regulador altamente conservado (uORE) en el 5'UTR del gen **CDKN1B** en un paciente con un adenoma hipofisario y una neoplasia pancreática bien diferenciada. Esta delección provoca

el desplazamiento del codón de terminación de uORF con el consiguiente alargamiento del péptido codificado por uORF y el acortamiento drástico del espacio intercistónico. Los hallazgos demuestran que, además de los mecanismos descritos que conducen a una actividad reducida de **p27(KIP1)**, como la degradación a través de la vía ubiquitina/proteasoma o el secuestro no covalente, la actividad de **p27(KIP1)** también puede ser modulada por un uORF y mutaciones que afecta a uORF podría cambiar la expresión de **p27(KIP1)** (Occhi y col., 2013) (fig. 14.12).

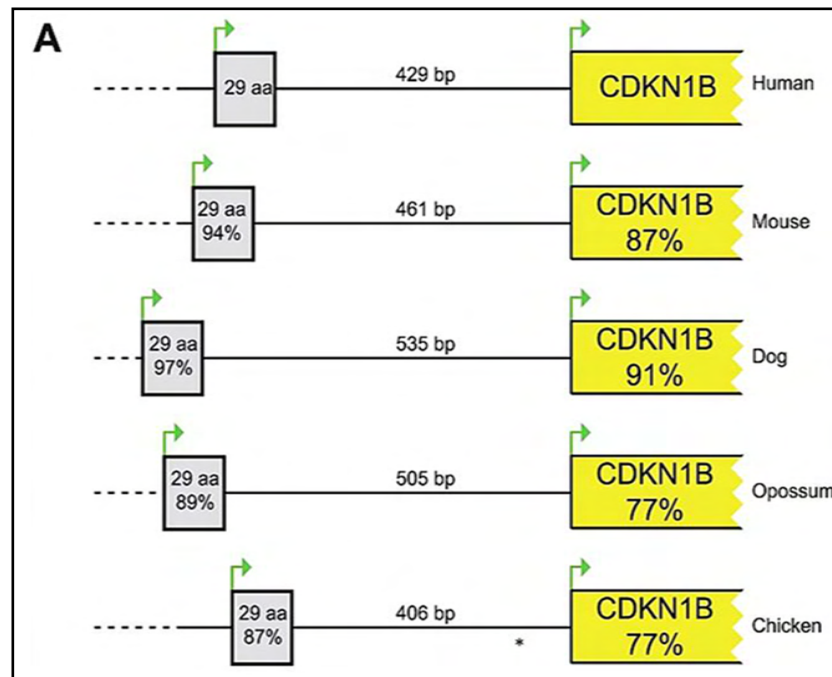


Fig. 14.12 Comparación del gen **CDKN1B** entre especies (Occhi, 2013).

El síndrome de **MEN-4**, inicialmente en ratas el **MENX**, es causado por mutaciones de la línea germinal en el gen supresor tumoral **CDKN1B**. El fenotipo más común de **MEN-4** es el *hiperparatiroidismo primario (PHPT)* seguido de adenomas hipofisarios. Se han identificado mutaciones somáticas o de línea germinal en **CDKN1B** en pacientes con **PHPT esporádico**, tumores neuroendocrinos del intestino delgado, linfoma y cáncer de mama, lo que demuestra un papel novedoso de dicho como gen (Alrezk y col., 2017).

El **MEN-4**, debido a mutaciones del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina (**CDNK1B**). Cada tipo de MEN está asociado con la aparición de tumores específicos. El MEN-4 está causado por mutaciones heterocigóticas de **CDNK1B** que codifica el CDK1 p27Kip1 de 196 aminoácidos, que se activa mediante la metilación de H3K4 (Thakker, 2014).

El MEN-4 es raro y comparte un espectro fenotípico similar al MEN1. La diferencia entre MEN1 y MEN4 es la mutación del gen de la línea germinal. En MEN1, hay una mutación del gen *Menina*. En MEN-4, hay una mutación en el gen **CDKN1B**. El hiperparatiroidismo seguido de adenomas hipofisarios es la principal manifestación clínica de MEN-4 (Ahmed y col., 2021).

14.4 Complejo de Carney (CNC)

Es un *síndrome de neoplasia endocrina múltiple hereditaria* dominante poco común que afecta a las glándulas endocrinas: corteza suprarrenal, pituitaria y tiroides, en el que se identificó la proteína quinasa A (**PRKARIA**) ubicada en 17q22-24. Se observa una mutación de la línea germinal heterocigótica

inactivante de *PRKAR1A* en aproximadamente dos tercios de los pacientes con complejo de Carney. Se asocia con muchos otros tumores no endocrinos: mixomas cardíacos, tumores testiculares, schwannoma melanótico, mixomatosis mamaria y pigmentación anormal o mixomas de la piel (Carney y col., 1985; Vezzosi y col., 2010) (fig. 14.13).

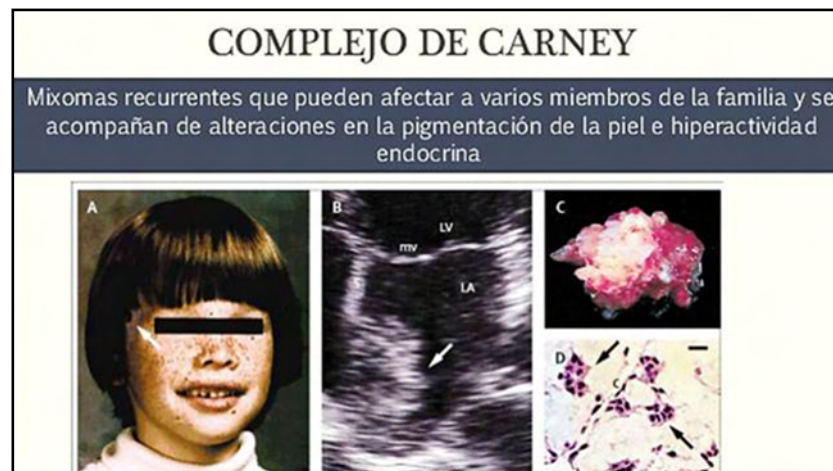


Fig. 14.13 Complejo de Carney (Slideshare).

El complejo de Carney (CNC) es un síndrome de neoplasia múltiple que tiene manifestaciones endocrinas y no endocrinas. Los criterios de diagnóstico incluyen mixoma, lentigos y enfermedad adrenocortical nodular pigmentada primaria, entre otros signos. En la mayoría de los casos se trata de una enfermedad autosómica dominante, por lo que el diagnóstico requiere estudio y seguimiento de los familiares. Las mutaciones inactivadoras del gen *PRKAR1A* se identificaron como la principal causa de la enfermedad (Bosco Schamun y col., 2018).

El CNC está causado por mutaciones inactivadoras o grandes deleciones del gen *PRKAR1A* ubicado en 17q22-24 que codifica la subunidad reguladora tipo I alfa del gen de la proteína quinasa A (*PKA*). Más recientemente, los componentes del complejo se han asociado con defectos de otras subunidades de *PKA*, como las subunidades catalíticas *PRKACA* (hiperplasia suprarrenal) y *PRKACB* (manchas pigmentadas, mixomas, adenomas hipofisarios) (Correa y col., 2015).

El CNC sería causado por mutaciones inactivadoras en *PRKAR1A*, el gen que codifica la subunidad reguladora tipo 1A de la proteína quinasa A. Se desarrollaron alelos nulos convencionales y condicionales para *Prkar1a* en el ratón. Los ratones *Prkar1a* (+/-) desarrollaron schwannomas no pigmentados y lesiones óseas fibroóseas a los 6 meses de edad. Aunque no se observaron lesiones cardíacas y suprarrenales específicas de genotipo, se observaron neoplasias tiroideas benignas y malignas en ratones mayores. Este espectro de tumores se superpone al observado en pacientes con CNC, lo que confirma la validez de este modelo de ratón. El análisis genético indicó que la pérdida alélica se produjo en un subconjunto de células tumorales, lo que sugiere que la pérdida completa de *Prkar1a* juega un papel clave en la tumorigénesis. Las observaciones confirmaron la identidad de *PRKAR1A* como un gen supresor de tumores con importancia específica para los tejidos que responden al AMP cíclico y sugieren que estos ratones pueden ser herramientas valiosas no solo para comprender la tumorigénesis endocrina, sino también para comprender las predisposiciones heredadas para la formación de schwannomas (Kirschner y col., 2005). El CNC es una predisposición tumoral hereditaria asociada con tumores hipofisarios, incluidos los somatotropinomas e informes raros de prolactinomas. La pérdida de *PRKAR1A* provoca un aumento de la señalización de *PKA*, lo que conduce a la tumorigénesis pituitaria. No se han detectado mutaciones en el gen en tumores hipofisarios esporádicos, pero hay algunos datos que sugieren que los mecanismos no genómicos pueden causar la pérdida de la expresión de proteínas. A diferencia de los pacientes con CNC, los ratones heterocigotos para mutaciones de *Prkar1a* no desarrollan tumores hipofisarios, aunque la desactivación completa del gen en el linaje

Pit1 de la hipófisis produce somatotropinomas. Los datos indican que la pérdida completa de Prkar1a/PRKAR1A puede causar tumores pituitarios en ratones y hombres. Es probable que el patrón de los tumores esté relacionado con las vías de señalización empleadas en tipos específicos de células pituitarias (Kirschner, 2010).

En el CNC la pigmentación de la piel incluye lentigos y nevos azules. Los mixomas pueden ocurrir en la mama, la piel y el corazón. Los mixomas cardíacos pueden ser múltiples y ocurrir en cualquier cámara cardíaca. La manifestación de la glándula endocrina más común es un síndrome de Cushing independiente de ACTH debido a *enfermedad adrenocortical nodular pigmentada primaria (PPNAD)* que puede ocurrir aislado, sin otros signos de CNC. Las glándulas tiroideas y pituitaria y las gónadas también están afectadas. El gen **PRKAR1A**, ubicado en **17q22-24**, codifica la subunidad reguladora tipo 1A de la proteína quinasa A. Las mutaciones inactivadoras de la línea germinal de dicho gen se encuentran en el 70% de los pacientes con CNC que es un componente clave de la vía de señalización de c-AMP e implicado en la tumorigénesis endocrina. No existe una clara correlación genotipo-fenotipo en pacientes con CNC (Losada Grande y col., 2011).

Las mutaciones del gen **PRKAR1A** son responsables de una mitad de los casos, pero nunca se han encontrado en tumores hipofisarios esporádicos. Se obtuvo tejido hipofisario de un heterocigoto acromegálico de un paciente con CNC para una mutación inactivante común (**PRKAR1A**). Tanto la inmunohistoquímica como la microscopía electrónica mostraron un adenoma hipofisario altamente pleiomórfico. La pérdida alélica puede haber ocurrido en un solo tipo de células precursoras que se diferenciaron y se expandieron clonalmente en varios fenotipos. La transición epitelial a mesenquimatoso también puede ocurrir en los adenomas pituitarios pleiomórficos asociados a CNC (Bossis y col., 2004).

Los mixomas cardíacos son tumores mesenquimáticos benignos que pueden presentarse como componentes del CNC. Los mixomas cardíacos sindrómicos se asocian con pigmentación irregular de la piel y endocrinopatía. Se demostró que el gen **PRKAR1α** que codifica la subunidad reguladora R1α de la proteína quinasa A (**PKA**) dependiente de cAMP se asigna a este locus del **cromosoma 17q24**. Las mutaciones dan como resultado la haploinsuficiencia de R1 α y causan el CNC. Aunque la tumorigénesis cardíaca puede requerir una segunda mutación somática, los análisis de ADN y proteínas de un mixoma auricular reseca de un paciente CNC con una delección de PRKAR1α revelaron que las células del mixoma retienen los alelos **PRKAR1α** de tipo salvaje y mutante (Casey y col., 2000).

Se estudió la histopatología de las pituitarias de 8 pacientes con **CNC y acromegalia**. Los tumores se tiñeron para GH y prolactina PRL y algunos para otras hormonas, incluida la subunidad α. La evidencia de hiperplasia somatomammotropa estuvo presente en 5 de los 8 pacientes en las proximidades del tejido del adenoma; en los 3 restantes, sólo se dispuso de tejido de adenoma para su estudio. No se observaron cambios cromosómicos en los microadenomas. Se concluye que, al menos en algunos pacientes con CNC, la pituitaria se caracteriza por hiperplasia somatotropa que precede a la formación de somatotropinomas. Un macroadenoma en un paciente con acromegalia avanzada y que no se curó mediante cirugía, mostró cambios genéticos que serían impactos genéticos secundarios y terciarios involucrados en la oncogénesis pituitaria. Se subraya: (1) La necesidad de una investigación temprana de la acromegalia en pacientes con CNC; (2) Se proporciona una hipótesis molecular para su progresión clínica y (3) Se sugiere un modelo para la formación de somatotropinomas relacionados con MAS y, quizás, con MEN 1 (Pack y col., 2000).

14.5 Síndrome de McCune-Albright (MAS)

El síndrome de McCune-Albright (MAS) es un trastorno poco común caracterizado por la asociación de pubertad precoz (principalmente en niñas), displasia fibrosa poliostótica y lesiones cutáneas pigmentadas *café con leche*. Además de esta tríada clásica, también se pueden asociar varios trastornos endocrinos, todos debidos a una hiperproducción hormonal autónoma, como los somatotropinomas, bocios hipertiroideos o hiperplasia suprarrenal. El patrón de distribución de las le-

siones cutáneas y el carácter esporádico del MAS han llevado a la hipótesis de que este síndrome se debe a una mutación somática dominante en las primeras etapas del desarrollo. Los diversos síndromes de hiperactividad endocrina observados en MAS tienen en común la participación de células que responden a la señalización extracelular activando el sistema de adenil-ciclase. La identificación de mutaciones somáticas del gen *Gsa* ha demostrado que MAS se debe a una mutación activadora post-cigótica de la subunidad *Gsa* que conduce a una distribución en mosaico de células que llevan actividad adenil-ciclase activa. La aplicación de herramientas de la genética molecular al estudio de este síndrome confirma su contribución esencial para un conocimiento más profundo de las patologías endocrinas (Lumbroso y col., 2002).

Las endocrinopatías típicas son pubertad precoz, hipertiroidismo, exceso de GH, hiperprolactinemia e hipercortisolismo. El inicio suele ser durante la infancia y la niñez. El pronóstico depende de la gravedad de cada manifestación endocrina individual. Existen manifestaciones no endocrinas, como displasia fibrosa ósea, pérdida renal de fosfato e hiperpigmentación de la piel (manchas color café con leche). La displasia fibrosa ósea, por lo general poliostótica, provoca fracturas que requieren tratamiento. La disfunción hepatobiliar y la enfermedad cardíaca son un factores de riesgo importantes para la muerte prematura (Völkl y Dörr, 2006).

El MAS es causado por 4 mutaciones post-cigóticas de la proteína *Gsa* con distribución en mosaico. La mutación **R201H** se puede detectar en los leucocitos, en un 70% de los casos. Los pacientes presentan una amplia variabilidad clínica con el mismo defecto molecular. Esto sugiere que los tejidos tienen diferentes proporciones de células mutantes (Román y col., 2001).

La temprana mutación embrionaria postcigótica somática activa el gen **GNAS1** (fig. 14.14: etiología, herencia y clínica).

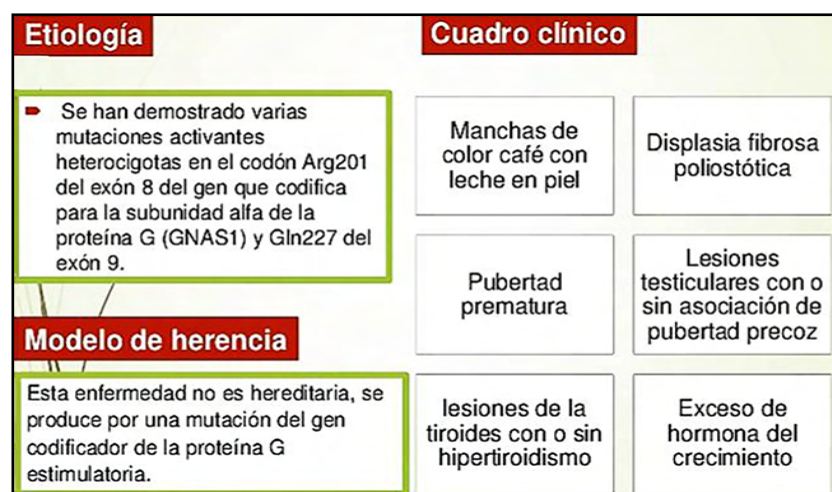


Fig. 14.14 MAS: etiología, herencia y clínica (Slideshare).

Las diversas anomalías metabólicas observadas en MAS comparten la participación de células que responden a señales extracelulares a través de la activación del sistema de adenilil-ciclase sensible a hormonas. Las mutaciones que conducen a la activación constitutiva de *Gsa* que estimula la adenilil-ciclase, se identificaron en un subconjunto de somatotropinomas y tirotropinomas. Se identificó una mutación en el gen que codifica *Gsa* en un paciente con MAS. Se encontró una transición de G a A en el exón 8 de uno de los dos alelos que codifican *Gsa*. Esta sustitución de una sola base da como resultado la sustitución de arginina por histidina en la posición 201 de la proteína *Gsa* madura. El análisis semicuantitativo del ADN amplificado indicó que el alelo mutante era menos prevalente que el alelo de tipo salvaje en los leucocitos periféricos y estaba presente en niveles muy bajos en la piel. Los hallazgos apoyan la distribución segmentaria y la expresión variable de las manifestaciones cutáneas, esqueléticas y endocrinas del MAS y reflejan un mosaicismo somático subyacente (Schwindinger y col., 1992).

Fig. 14.154: definición y epidemiología del MAS.

Definición

Es el resultado de una temprana mutación embrionaria postcigótica somática activando el gen GNAS1. (Codificando la proteína G involucrada en el desarrollo de las estructuras músculo-esqueléticas y hormonales. que esta asociada a la secuencia del cAMP).



Epidemiología

Las estimaciones oscilan entre 1: 100.000 y 1: 1.000.000
 Afecta a ambos sexos y no tiene predilección por ninguna población particular.

Tomado de:
<http://www.analesdepediatria.org/index.php?p=watermark&idA=UINPBA00005H&item=S1695403311004905&origen=analesdepediatria&web=analesdepediatria&urlApp=http://www.analesdepediatria.org&estadoItem=S300&idiomaItem=es>

Fig. 14.15 MAS: definición y epidemiología (Slideshare).

Los pacientes con MAS muestran mosaicismo de activación de mutaciones somáticas de la **subunidad α de Gs**. Por tanto, la presentación clínica de cada individuo depende de la distribución particular de las células afectadas, provocando un amplio espectro de manifestaciones endocrinas y no endocrinas. El MAS es causado por una mutación al azar<. cromosoma 20 (q13-32) → gen **GNAS** → mutaciones en exones 8 y 9 (contienen información para activar la proteína G) (fig. 4.16).

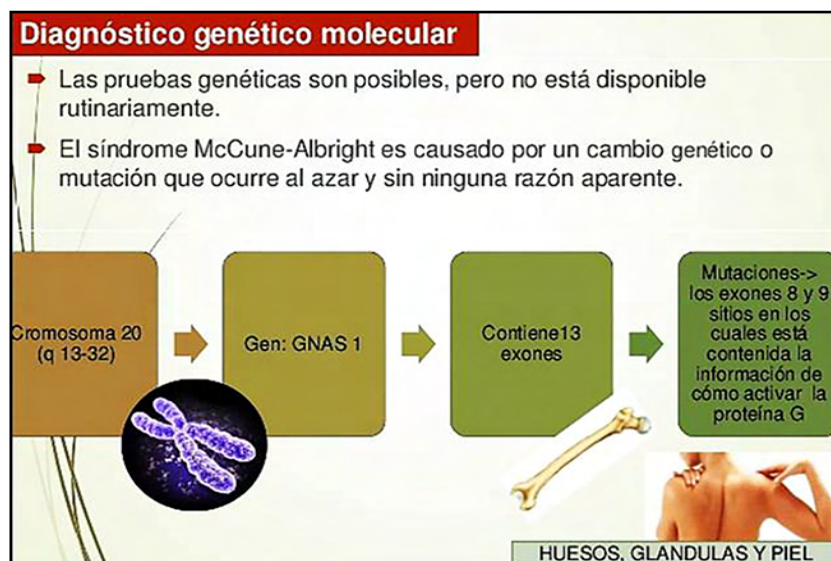


Fig. 14.16 MAS: diagnóstico genético molecular (Slideshare).

Referencias

- Agarwal SK et al. The MEN1 gene and pituitary tumours. *Horm Res* 71(Suppl 2):131-138, 2009.
- Agarwal SK et al. Mutaciones raras de la línea germinal en genes inhibidores de la quinasa dependientes de ciclina en la neoplasia endocrina múltiple tipo 1 y estados relacionados. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 1826-1834, 2009.
- Ahmed FW et al. Neoplasias endocrinas múltiples tipo 4. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
- Alband N, Korbonits M. Tumores hipofisarios familiares. *Handb Clin Neurol* 2014; 124: 339-60, 2014.
- Alrezk R et al. Mutaciones MEN4 y *CDKN1B*: el último de los síndromes MEN. *Endocr Related Cancer* 24(10):T195-T208, 2017.
- Balogh K et al. Menina y sus proteínas que interactúan: elucidación de la función de la menina. *Trends Endocrinol Metab* 17: 357-364, 2006.
- Barlier A et al. Mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene are not highly prevalent among subjects with sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 92:1952-1955, 2007.
- Bertolino P et al. Los ratones mutantes heterocigotos *Men1* desarrollan una variedad de tumores endocrinos que imitan la neoplasia endocrina múltiple tipo 1. *Mol Endocrinol* 17: 1880-1892, 2003.
- Beckers A et al. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and the pituitary adenoma predisposition due to mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene. *Endocr Rev* 34:239-277, 2013.
- Beckers A, Daly AF. The clinical, pathological, and genetic features of familial isolated pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 157:371-382, 2007.
- Bell DR, Poland A. Binding of aryl hydrocarbon receptor (AhR) to AhR-interacting protein. The role of hsp90. *J Biol Chem* 275:36407-36414, 2000.
- Bosco Schamun MB et al. Revisión del complejo de Carney: características genéticas. *Endocrinol Diabetes Nutr* 65(1):52-59, 2018.
- Bossis y col. Un adenoma pituitario pleiomórfico de GH de un paciente con complejo de Carney muestra universal pérdida alélica en el locus de la subunidad reguladora 1A de la proteína quinasa A (PRKARIA). *J Med Genet* 41: 596- 600, 2004.
- Casey M et al. Mutaciones en la subunidad reguladora de proteína quinasa A R1alpha causan mixomas cardíacos familiares y complejo de Carney. *J Clin Invest* 106: R31- 38, 2000.
- Carney JA et al. El complejo de mixomas, pigmentación irregular e hiperactividad endocrina. *Medicine (Baltimore)* 64: 270-283, 1985.
- Chahal HS et al. Caracterización clínica, genética y molecular de pacientes con adenomas hipofisarios familiares aislados (FIPA). *Trends Endocrinol Metab* 21: 419-427, 2010.
- Chahal HS et al. Somatostatin analogs modulate AIP in somatotroph adenomas: the role of the ZAC1 pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 97:E1411-E1420, 2012.
- Corbetta S et al. Neoplasia endocrina múltiple tipo 1 en pacientes con tumores pituitarios reconocidos de diferentes tipos. *Clin Endocrinol (Oxf)* 47: 507- 512, 1997.
- Correa R et al. Complejo de Carney: una actualización. *Eur J Endocrinol* 173(4):M85-97, 2015.
- Crabtree JS et al. Un modelo de ratón de neoplasia endocrina múltiple, tipo 1, desarrolla múltiples tumores endocrinos. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 1118-1123, 2001.
- Daly AF et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families. *J Clin Endocrinol Metab* 92:1891-1896, 2007.
- Daly AF et al. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3316-3323, 2006.
- Daly AF et al. Clinical characteristics and therapeutic responses in patients with germline AIP mutations and pituitary adenomas: an international collaborative study. *J Clin Endocrinol Metab* 95:E373-E383, 2010.

- Daly AF, Petrossians P, Beckers A. An overview of the epidemiology and genetics of acromegaly. *Endocrinol Invest* 28:67-69, 2005.
- Elston MS et al. Síndromes de tumores pituitarios familiares. *Nat Rev Endocrinol* 5: 453– 461, 2009.
- Fajardo-Montañana C et al. AIP mutations in familial and sporadic pituitary adenomas: local experience and review of the literature. *Endocrinol Nutr* 56:369-377, 2009.
- Fernández A et al. Prevalence of pituitary adenomas: a community-based, cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). *Clin Endocrinol (Oxf)* 72:377-382, 2010.
- Frohman LA, Eguchi K. Familial acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 1 (Suppl A):S90-96, 2004.
- Georgitsi M et al. Molecular diagnosis of pituitary adenoma predisposition caused by aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations. *Proc Nat Acad Sci* 104:4101-4105, 2007.
- Hillegass JM et al. The impact of aryl hydrocarbon receptor signalling on matrix metabolism: implications for development and disease. *Biol Chem* 387:1159-1173, 2006.
- Iacovazzo D et al. Adenomas hipofisarios esporádicos: el papel de las mutaciones de la línea germinal y recomendaciones para el cribado genético. *Exp Rev Endocrinol Metab* 12(2):143-153, 2017.
- Igreja S et al. International FIPA Consorcio. Caracterización de mutaciones de la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburos de arilo (AIP) en familias de adenomas hipofisarios aislados familiares. *Hum Mutat* 31: 950– 960, 2010.
- Jaffrain-Rea ML et al. Expression of aryl hydrocarbon receptor (AHR) and AHR-interacting protein in pituitary adenomas: pathological and clinical implications. *Endocr Relat Cancer* 16:1029-1043, 2009.
- Kaji H et al. Regulación del ciclo celular de la expresión de menina. *Cancer Res* 59: 5097-5101, 1999.
- Kang BH, Altieri DC. Regulation of survivin stability by the arylhydrocarbon receptor-interacting protein. *J Biol Chem* 281:24721-24727, 2006.
- Kasuki L et al. AIP expression in sporadic somatotropinomas is a predictor of the response to octreotide LAR therapy independent of SSTR2 expression. *Endocr Relat Cancer* 19:L25-29, 2012.
- Kasuki L et al. Low aryl hydrocarbon receptor-interacting protein expression is a better marker of invasiveness in somatotropinomas than Ki-67 and p53. *Neuroendocrinology* 94:39-48, 2011.
- Kirschner LS et al. Un modelo de ratón para el síndrome tumoral del complejo de Carney desarrolla neoplasia en tejidos que responden al AMP cíclico. *Cancer Res* 65: 4506–4514, 2005.
- Kirschner LS: PRKAR1A y la evolución de los tumores hipofisarios. *Mol Cell Endocrinol* 326: 3-7, 2010.
- Lee M, Pellegata NS. Neoplasia endocrina múltiple tipo 4. *Front Horm Res* 41:63-78, 2013. *Front Horm Res* 41:63-78, 2013.
- Lees MJ, Peet DJ, Whitelaw ML. Defining the role for XAP2 in stabilization of the dioxin receptor. *J Biol Chem* 278:35878-35888, 2003.
- Lemos MC, Thakker RV: Neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1): análisis de 1336 mutaciones notificadas en la primera década posterior a la identificación del gen. *Hum Mutat* 29: 22–32, 2008.
- Leontiou CA et al. The role of the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene in familial and sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2390-2401, 2008.
- Lin BC et al. Deletion of the aryl receptor-associated protein 9 leads to cardiac malformation and embryonic lethality. *J Biol Chem* 282:35924-35932, 2007.
- Losada Grande EJ et al. Complejo de Carney. *Endocrinol Nutr* 58(6):308-14, 2011.
- Lumbroso S et al. Síndrome de McCune-Albright: genética molecular. *J Pediatr Endocrinol Metab* 15 Suppl 3: 875-82, 2002.
- Marinoni I, Pellegata NS: p27kip1: ¿un nuevo gen de neoplasia endocrina múltiple? *Neuroendocrinology* 93: 19-28, 2011.
- Namihira H et al. El producto génico de neoplasia endocrina múltiple tipo 1, menina, inhibe la actividad promotora de prolactina humana. *J Mol Endocrinol* 29: 297–304, 2002.
- Naves LA et al. Variable pathological and clinical features of a large Brazilian family harboring a mutation in the aryl hydrocarbon receptor -interacting protein gene. *Eur J Endocrinol* 157:383-391, 2007.
- Nelakurti DD et al. Análisis completo de las mutaciones de MEN1 y su papel en el cáncer. *Cancer (Basilea)* 12 (9): 2616, 2020.

- Occhi G et al. Una novela la mutación en el marco de lectura abierto corriente arriba del gen CDKN1B causa un fenotipo MEN4. *PLoS Genet* 9: e1003350, 2013.
- Oriola J et al. Germ line mutations of AIP gene in somatotropinomas resistant to somatostatin analogues. *Eur J Endocrinol* 168:9-13, 2012.
- Pack SD et al. Estudios genéticos e histológicos de tumores hipofisarios somatomammotrópicos en pacientes con el “complejo de pigmentación cutánea manchada, mixomas, hiperactividad endocrina y schwannomas” (complejo de Carney). *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3860–3865, 2000.
- Pellegata NS. MENX y MEN4. *Clínicas (Sao Paulo)* 67 Suppl 1:13-8, 2012.
- Petrossians P et al. Malignant prolactinoma discovered by D2receptor imaging. *J Clin Endocrinol Metab* 85:398-401, 2000.
- Raitila A et al. Mice with inactivation of aryl hydrocarbon receptor interacting protein (Aip) display complete penetrance of pituitary adenomas with aberrant ARNT expression. *Am J Pathol* 177:1969-1976, 2010.
- Raitila A et al. No evidence of somatic arylhydrocarbon receptor interacting protein mutations in sporadic endocrine neoplasia. *Endocr Relat Cancer* 14:901-906, 2007.
- Román R et al. Estudio clínico y molecular de pacientes chilenos con síndrome de McCune-Albright. *Rev Med Chil* 129(12):1365-72, 2001.
- Rostomyan L et al. Caracterización clínica y genética del gigantismo hipofisario: un estudio colaborativo internacional en 208 pacientes. *Endocr Relat Cancer* 22(5):745-57, 2015.
- Scheithauer BW et al. Adenomas hipofisarios del síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo I. *Semin Diagn Pathol* 4: 205-211, 1987.
- Schwindinger WF et al. Identificación de una mutación en el gen que codifica la subunidad alfa de la proteína G estimulante de la adenilil ciclasa en el síndrome de McCune-Albright. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 5152– 5156, 1992.
- Tatsi C, Stratakis CA. La genética de los adenomas hipofisarios. *J Clin Med* 9(1):30, 2019.
- Thakker RV. Neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1) y tipo 4 (MEN4). *Mol Endocrinol Cel* 386(1-2):2-15, 2014.
- Tichomirowa MA et al. High prevalence of AIP gene mutations following focused screening in young patients with sporadic pituitary macroadenomas. *Eur J Endocrinol* 165:509-515, 2011.
- Tichomirowa MA et al. Variantes del gen del inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1B (CDKN1B) en familias de adenomas hipofisarios aislados familiares con mutación AIP negativa. *Endocr Relat Cancer* 19: 233-241, 2012.
- Toledo RA et al. Isolated familial somatotropinoma: 11q13-loh and gene/protein expression analysis suggests a possible involvement of AIP also in non-pituitary tumorigenesis. *Clinics (Sao Paulo)* 65:407-415, 2010.
- Trouillas J et al. Groupe d'études des Tumeurs Endocrines. Tumores pituitarios e hiperplasia en el síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1): un estudio de casos y controles en una serie de 77 pacientes versus 2509 pacientes sin MEN1. *Am J Surg Pathol* 32: 534– 543, 2008.
- Vasilev V et al. Actualización clínica y molecular sobre las causas genéticas de los adenomas hipofisarios. *Horm Metab Res* 52(8):553-561, 2020a.
- Vasilev V et al. Síndromes de tumores hipofisarios familiares. *Prac Endocr* 17 (Supp) 3:41-6, 2011.
- Vasilev V et al. Tumores endocrinos hereditarios: oportunidades actuales de investigación y estado de la técnica: Las funciones de AIP y GPR101 en los adenomas hipofisarios familiares aislados (FIPA). *Cancer Endocr Relat* 27(8):T77-T86, 2020b.
- Vezzosi D et al. Carney complex: clinical and genetic 2010 update. *Ann Endocrinol (Paris)* 71:486-493, 2010.
- Vierimaa O et al. Pituitary adenoma predisposition caused by germ line mutations in the AIP gene. *Science* 312:1228-1230, 2006.
- Villa C et al. Silent familial isolated pituitary adenomas: histopathological and clinical case report. *Endocr Pathol* 19:40-46, 2008.
- Villa C et al. Hiperplasia-adenoma sequence in pituitary tumorigenesis related to aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene mutation. *Endocr Relat Cancer* 18:347-356, 2011.
- Völkl TMK, Dörr HG. Síndrome de McCune-Albright: cuadro clínico e historia natural en niños y adolescentes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 19 Suppl 2:551-9, 2006.

CAPÍTULO 15

RECEPTORES DE SOMATOSTATINA EN LOS TUMORES HIPOFISARIOS

15.1 Receptores de somatostatina en hipófisis (SSTR)

La *somatostatina* (SST), neurohormona o neurotransmisor, fue identificada por Krulich en 1968 y caracterizada por Brazeau en 1973 (fig. 15.1). Es de naturaleza peptídica y actúa como una *hormona inhibidora de la liberación de somatotropina* (SRIF), a través de diversos *subtipos de receptores* (SSTR). Se la detecta en casi todos los sistemas de tejidos y órganos, así como en terminales nerviosas y células glandulares especializadas.

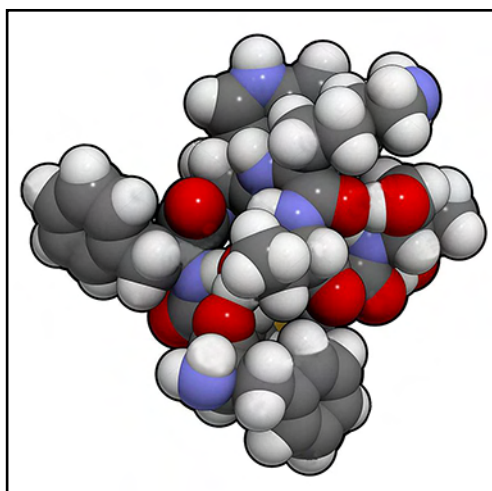


Fig. 15.1 Molécula de somatostatina (Alamy).

Desde su descubrimiento hace tres décadas como inhibidor de la liberación de GH de la glándula pituitaria, la somatostatina (SST) ha atraído mucha atención debido a su papel funcional en la regulación de una amplia variedad de funciones fisiológicas en el cerebro, pituitaria, páncreas, tracto gastrointestinal, glándulas suprarrenales, tiroides, riñones y sistema inmune. Sus acciones incluyen inhibición de secreciones endocrinas y exocrinas, modulación de la neurotransmisión, funciones motoras y cognitivas, inhibición de la motilidad intestinal, absorción de nutrientes e iones y contractilidad vascular. Además, el péptido controla la proliferación de células normales y tumorales. Su acción está mediada por una familia de receptores acoplados a **proteína G** (SSTR1 a 5). Las actividades antitumorales incluyen el bloqueo de la producción de factores de crecimiento y de la hormona liberadora de GH (GHRH), la inhibición de las señales mitogénicas mediadas por el factor de crecimiento IGF-1 y la inducción de la apoptosis. Los efectos antitumorales indirectos incluyen la inhibición de la GHRH y la secreción del IGF-1 y acciones *antiangiogénicas*. Muchos tumores humanos expresan más de un subtipo de SSTR, con predominio del SSTR2. Estos receptores representan la base molecular para el uso clínico de *análogos de somatostatina* en el tratamiento de tumores endocrinos y su localización *in vivo* (Guillermet-Guibert y col., 2005).

El sistema de somatostatina (SRIF), que incluye el ligando y los receptores de SRIF, regula la función de la glándula pituitaria anterior, inhibiendo la secreción de hormonas y hasta cierto punto, el crecimiento de células tumorales hipofisarias. **SRIF-14** a través de sus receptores acoplados a proteína G afines activa múltiples vías de señalización celular que incluyen **adenilato ciclasa/cAMP**, **MAPK**, vías dependientes de **canales iónicos** y otras. Se sugirió una actividad del receptor **SRIF constitutivo** independiente de SRIF responsable de la inhibición de GH y ACTH *in vitro* (Eigler y Ben-Shlomo, 2005).

Entre el amplio espectro de efectos de la **SST**, se han identificado varias respuestas biológicas que incluyen secreción de *hormona de crecimiento* (GH) por **SSTR2** y **5**, secreción de *insulina* por **SSTR5**, secreción de *glucagon* por **SSTR2** y respuestas inmunes por **SSTR2** (Patel, 1999).

Se ha descrito un nuevo péptido denominado *cortistatina* (**CORT**) (de Lecea y col., 1996) que presenta una marcada homología estructural con la **SST** y ejerce acciones similares (Gahete y col., 2008). La **SST** y la **CORT** están mediadas por una familia de receptores de 7 dominios transmembrana acoplados a proteínas G (**GPCR**), codificados por 5 genes diferentes (**sstr1-5**) (Olias y col., 2004). Se ha considerado que dichos genes codifican 6 subtipos diferentes de *receptores*: **SST1-5** y una variante del receptor denominada **SST2B** (Moller y col., 2003).

Se identificaron *variantes truncadas del receptor SSTR5* humano denominadas **SSTR5TMD4** y **SSTR5TMD5**, lo que incrementa aún más la complejidad del sistema. Los receptores de SST (**SSTR**) se expresan en diversos tejidos, tanto normales como tumorales, y exhiben un complejo patrón de coexpresión. Es importante destacar que varios de estos receptores suelen estar coexpresados en un mismo tipo celular y que la respuesta celular final a la **SST** o la **CORT** depende de la respuesta coordinada de los receptores existentes (Durán-Prado y col., 2009 y 2012).

Los *receptores de somatostatina* (**SSTR1, 2A/B, 3, 4 y 5**) (**fig. 15.2**) pertenecen a la familia de receptores acoplados a *proteína G* y tienen un patrón de expresión amplio, tanto en tejidos normales como en tumores sólidos. La presencia en ciertos subtipos de **SSTR** en determinados tipos de tumores sugirió la utilización de dichos receptores como dianas terapéuticas. Sin embargo, la vida media corta de los ligandos naturales y su limitada aplicación clínica promovieron el desarrollo de agonistas sintéticos específicos para algunos de los **SSTR** (**octreótido, lanreótido o pasireótido**), que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento tumoral y la secreción hormonal en tumores de carácter neuroendocrino, incluidos los adenomas hipofisarios (Theodoropoulou y Stalla, 2013).

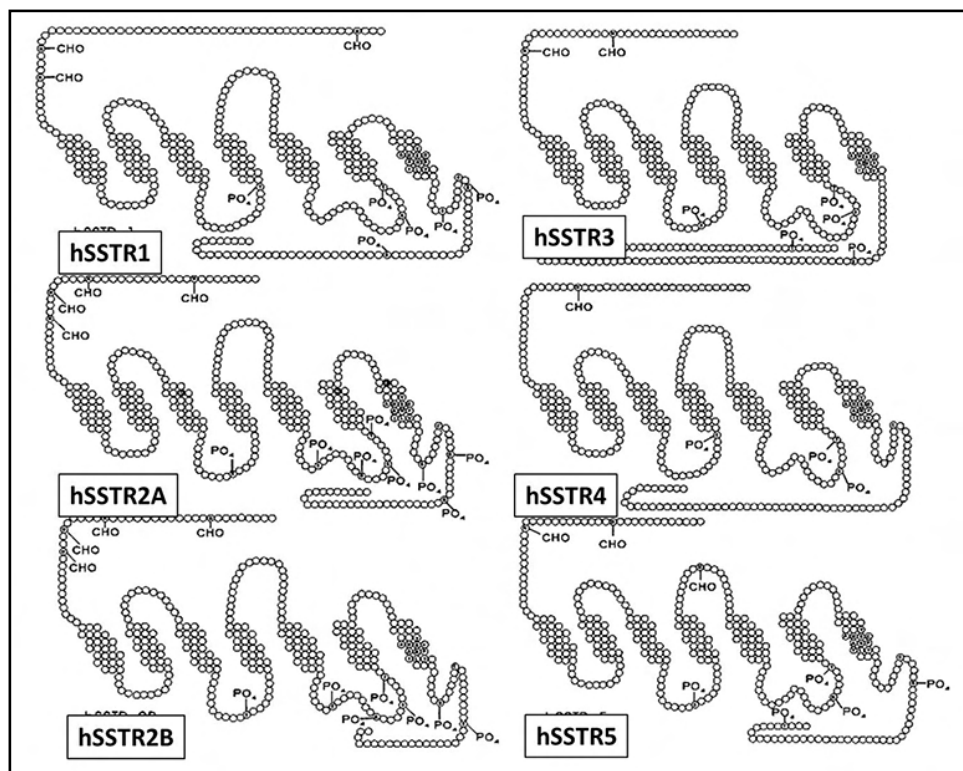


Fig. 15.2 Receptores de somatostatina (Cell Press).

15.2 Origen evolutivo de los receptores de somatostatina

El origen de los **SSTR** está marcado por los procesos de reorganización genómica ocurridos durante los primeros estadios evolutivos de los vertebrados. Las técnicas de secuenciación del genoma han ayudado a determinar la existencia de dos tipos de duplicaciones genómicas durante la evolución de los vertebrados. De acuerdo con la identidad de secuencia, los **SSTR** se dividen en dos grupos: receptores **SRIF1 (SSTR 2/3/5)** y receptores **SRIF2 (SSTR 1/4)**. Los análisis filogenéticos de los **SSTR** sugieren la existencia de una duplicación inicial en un hipotético gen precursor de los **SSTR** que originó los genes de los receptores **SRIF1** y **SRIF2** en el origen de la evolución de los vertebrados. En un segundo paso de duplicación se originaron los genes **SST1** y **SST4** a partir de **SRIF1** y los **SST2** y **SST5** a partir del **SRIF2**. A pesar del complejo proceso evolutivo, las secuencias nucleotídicas y aminoacídicas de los **SST** están conservadas entre diferentes especies y entre los diferentes subtipos (Larhammar y col., 2009). El gen **SS1** ha dado lugar al gen de la somatostatina 2 (**SS2**) por una duplicación segmento/cromosoma que probablemente sea el resultado de un evento de tetraploidización según la hipótesis 2R. El péptido *cortistatina* relacionado con la somatostatina, identificado por primera vez en roedores y humanos, es la contraparte de **SS2** en mamíferos placentarios (Tostivint y col., 2008; Moaen-ud-Din y Yang, 2009).

15.3 Estructura y funciones de los receptores de somatostatina

La identificación de los subtipos de receptores de somatostatina (**SSTR**) permitió estudiar las acciones estimuladoras/inhibitorias de la somatostatina sobre la secreción de la *hormona de crecimiento (GH)* (Luque y col., 2006). La somatostatina actúa a través de *receptores acoplados a proteína G (GPCR)*, inhibiendo la liberación de GH. Los **SSTR** fueron caracterizados en hipófisis en células GH4C1 que es una cepa clonal de células tumorales pituitarias de rata que sintetizan y secretan GH/PRL. De esta manera, se confirmó que la somatostatina, tetradecapéptido hipotalámico, inhibe la liberación de GH y, en determinadas circunstancias, también de PRL en células pituitarias normales. Entre las variantes clonales probadas, solo aquellas que tenían receptores para somatostatina mostraron una respuesta biológica a la hormona (Schonbrunn y Tashjian, 1978).

Todos los **GPCR** comparten una topología molecular común, constituida por un núcleo hidrófobo de 7 dominios transmembrana α -hélice (**DTM**) unidos por 3 lazos intracelulares y 3 extracelulares; un extremo amino-terminal expuesto al exterior celular y un extremo carboxilo-terminal intracelular. Las regiones extracelulares de los **GPCR** son las responsables del reconocimiento y la unión de los ligandos, mientras que las regiones citosólicas interaccionan con las moléculas encargadas de su transporte, anclaje a membrana, señalización, internalización, reciclaje y/o degradación. Todos los subtipos de **SSTR** clonados comparten un punto altamente conservado en el séptimo **DTM**, que representa la marca secuencial de la familia de **SSTR**. En los **SSTR**, el punto de unión a ligandos parece estar formado por 5 **DTM (DTM3/4/5/7)** y el segundo lazo extracelular. Además, la unión del ligando se realiza siguiendo el modelo de dos pasos. En un primer paso, el ligando se une con baja afinidad a la zona más externa del receptor y, en un segundo paso, se desplaza al canal interno del receptor, donde se une con gran afinidad a los sitios de unión al ligando. En lo que respecta a los ligandos naturales, tanto la **SST** como la **CORT** exhiben similares afinidades de unión a todos los **SSTR** en concentraciones sub-nanomolares. Los análogos sintéticos de la **SST** han sido diseñados con el objetivo de unirse a ciertos tipos de **SSTR**, especialmente el **SSTR2**, debido a su predominante expresión en diversas patologías tumorales. Específicamente, el *octreótido* y el *lanreótido* se unen de preferencia al receptor **SSTR2**, con moderada afinidad por los receptores **SSTR5/3**; mientras que el *pasireótido* se une de preferencia a **SSTR5**, pero también activa los receptores **SSTR1/2/3**. La consecuencia de esta unión ligando-receptor es la producción de una serie de cambios conformacionales que alcanza los sitios de unión intracelulares con activación de varias cascadas de señalización intracelular (Kumar y Grant, 2010).

Después de la internalización a través del sistema del receptor de somatostatina, el ^{111}In se transloca al área perinuclear y al núcleo. Los resultados de este estudio sugieren que el [^{111}In -DTPA-D-Phe1]-octreótido puede actuar como una potente sustancia dirigida a las células tumorales (Janson y col., 2000). Se ha descrito una alta densidad de **SSTs** en tumores neuroendocrinos humanos (**NET**). Los análogos de **SS** (octreótido, lanreótido) son la opción de tratamiento estándar para pacientes con acromegalia y juegan un rol destacado en el control sintomático de pacientes con tumores gastro-entero-pancreáticos-neuroendocrinos

(GEP-NET). Los análogos de SS pueden controlar la hipersecreción hormonal y reducir el crecimiento tumoral. El desarrollo de nuevos análogos de SS con nuevas características farmacocinéticas y farmacodinámicas puede mejorar aún más las aplicaciones clínicas de tales compuestos (De Martino y col., 2010).

Los receptores de péptidos como la somatostatina (**SSTR**) resultan un blanco molecular en el diagnóstico y tratamiento de tumores. El impacto clínico es a nivel diagnóstico: se hace gammagrafía de receptores *in vivo* utilizando péptidos radiomarcados para la localización de tumores y sus metástasis. También se los usa a nivel terapéutico: se hace radioterapia de tumores con receptores peptídicos. El tratamiento sintomático de los tumores neuroendocrinos (**NET**) por análogos de la somatostatina es claramente exitoso (Reubi, 2003).

15.4 Tráfico intracelular de los receptores de somatostatina

El tráfico de los **SSTR** tras la unión de su ligando (endocitosis, reciclaje y/o degradación) ha sido estudiado en profundidad. Es muy probable que el diferente tráfico de los **SSTR** pueda estar involucrado en la regulación de la respuesta de las células diana a los análogos de **SST**. El **SSTR2** parece ser la mejor opción como diana terapéutica, debido a la desensibilización reducida en respuesta a exposiciones prolongadas a análogos de **SST** y a su rápido reciclaje tras ser internalizado. Por el contrario, el **SSTR3** parece una diana terapéutica menos favorable, debido a su rápida internalización tras la unión de ligando. Los receptores de somatostatina expresados en las células tumorales constituyen el fundamento del tratamiento con análogos de somatostatina en pacientes con tumores neuroendocrinos positivos para dicho receptor. Los subtipos de receptores de somatostatina pueden sufrir internalización inducida por agonistas. Esto es importante para la terapia de los tumores con receptores positivos, ya que los análogos de somatostatina pueden ser acoplados a compuestos quimioterapéuticos o radioisótopos (Hofland y Lamberts, 2003; Hofland, 2003; Jacobs y Schulz, 2008; Shpakov, 2012; Csaba y col., 2001, 2012).

En la **fig. 15.3** se ve la representación esquemática de las vías de señalización intracelular moduladas por receptores de somatostatina. Efectos antiproliferativos de la somatostatina (**SST**) y sus análogos que se unen a los receptores de **SST** activando diferentes fosfotirosina fosfatasa (**PTP**) SHP-1, SHP-2 y PTP η . Activadores SHP-1 activados dan señales apoptóticas.

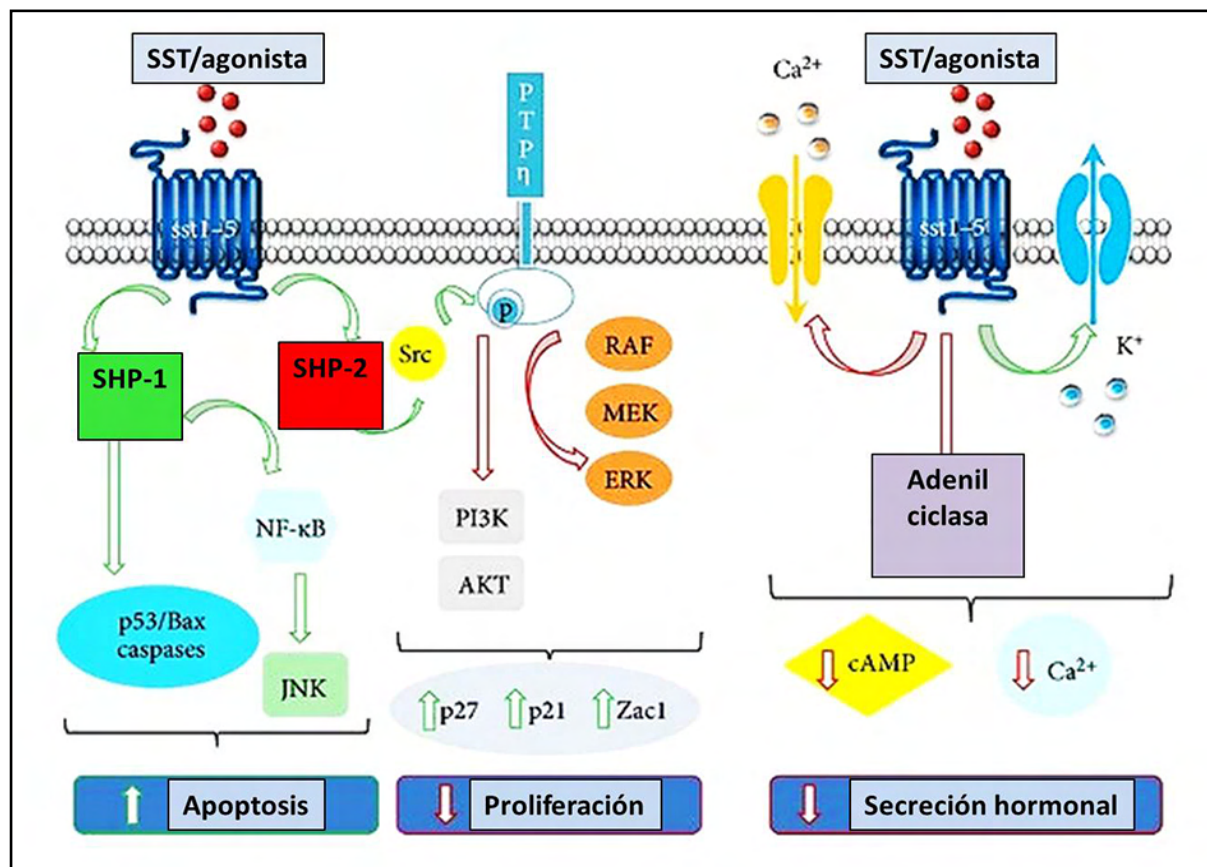


Fig. 15.3 Tráfico intracelular de los receptores de somatostatina (Researchgate)

15.5 Interacción de receptores de somatostatina y dopamina

Los *receptores acoplados a proteínas G (GPCR)* son receptores de la superficie celular que median las respuestas fisiológicas a una diversidad de estímulos. Se ha pensado que los **GPCR** actúan como monómeros, pero la evidencia reciente sugiere que los **GPCR** pueden formar dímeros u oligómeros como parte de su tráfico y función normales. De hecho, ciertos **GPCR** parecen tener un requisito estricto de *heterodimerización* para lograr una expresión superficial y una actividad funcional adecuadas. La dimerización de **GPCR** también podría ser necesaria para pasar los puntos de control de control de calidad de la vía biosintética de los **GPCR**. Esta hipótesis se ha demostrado de manera inequívoca solo para un pequeño número de receptores que deben formar heterodímeros para ser exportados correctamente a la membrana plasmática (heterodímeros obligatorios). La evidencia creciente sugiere que la homodimerización podría tener un papel similar en el proceso de maduración del receptor para muchos **GPCR**. Los receptores acoplados a proteínas G (**GPCR**) son la clase de dianas más manejables para el desarrollo de medicamentos terapéuticos de moléculas pequeñas. En la actualidad, todos los medicamentos dirigidos a **GPCR** aprobados son agonistas o antagonistas en los sitios de unión ortostéricos. Actualmente se acepta que los **GPCR** existen y podrían funcionar como dímeros, y existe una evidencia creciente de la presencia fisiológica y la relevancia de los heterodímeros de **GPCR** (Bulenger y col., 2005; Milligan, 2004; Bai, 2004; Terrillon y Bouvier, 2004; Grant y col., 2004; Pflieger y Eidne, 2005; Prinster y col., 2005; Milligan y Smith, 2007).

En la **fig. 15.4** se presenta un dibujo esquemático de la interacción molecular de la **SST** y sus análogos en la inhibición de la **proteína G**. La **SST** y sus análogos son capaces de alterar la expresión del gen de la **SST** estimulando los **GPCR** a través de un receptor acoplado a **Gi/o**.

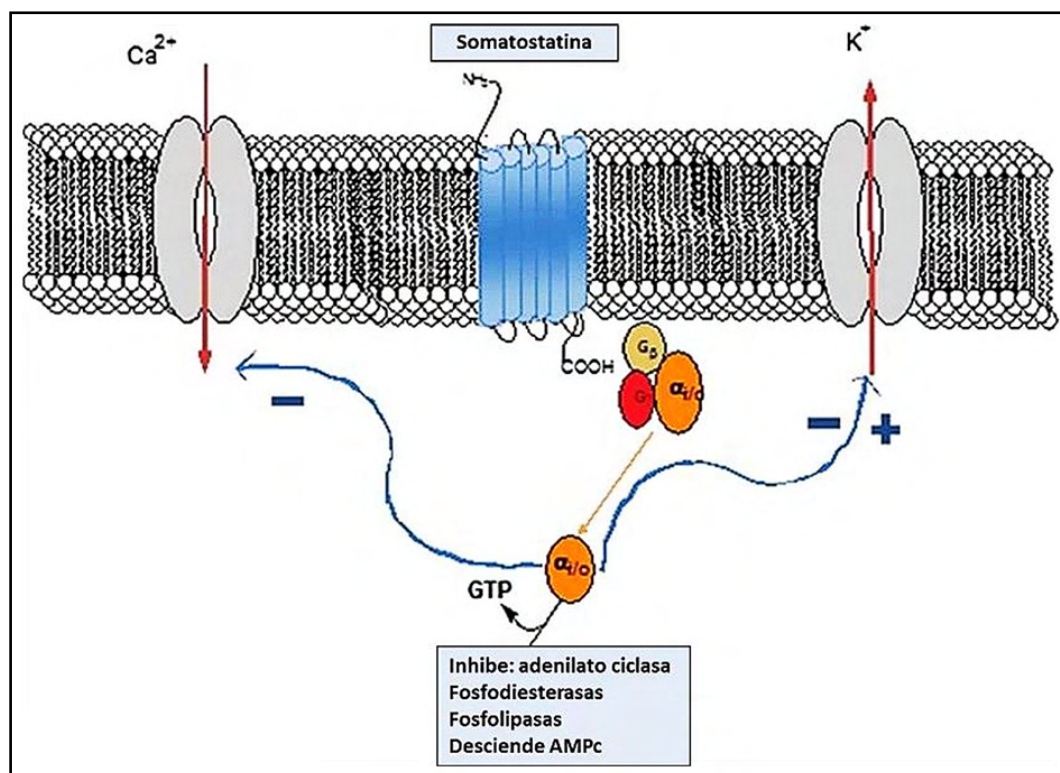


Fig. 15.4 Interacción molecular de la **SST** y sus análogos en la inhibición de la **proteína G**. (ScienceDirect).

Patel y col. (2002) marcaron la importancia de la microscopía FRET de fotoblanqueo (pb) que permite investigar los subtipos de receptores de somatostatina, siendo una herramienta biofísica sensible y específica para caracterizar el ensamblaje y la regulación de oligómeros de **GPCR** en la superficie celular.

La microscopía de fluorescencia confocal de doble marca mostró que cuando los **SSTR1** y **SSTR5** se coexpresaron en células K1 de ovario de hámster chino y se trataron con agonista, se internalizaron y se colocalizaron en vesículas citoplasmáticas. **SSTR5** formó heterodímeros con **SSTR1** pero no con **SSTR4**, lo que sugiere que la heterodimerización es un proceso específico que está restringido a algunas pero no a todas las combinaciones de subtipos de receptores (Rocheville y col., 2000)

En la **fig. 15.5** se ve la RET que se produce entre las moléculas donante y aceptora si están muy próximas (menos de 100 Å), lo que da como resultado la emisión de energía del aceptor a una longitud de onda característica.

Técnicas: FRET (excitación de un fluoróforo donante con luz) y BRET (donante Rluc cataliza la oxidación de coelenterazina a coelenteramida). Ambas técnicas son adecuadas para investigar complejos GPCR-proteína en células vivas, incluida la oligomerización (Pfleger y Eidne, 2005).

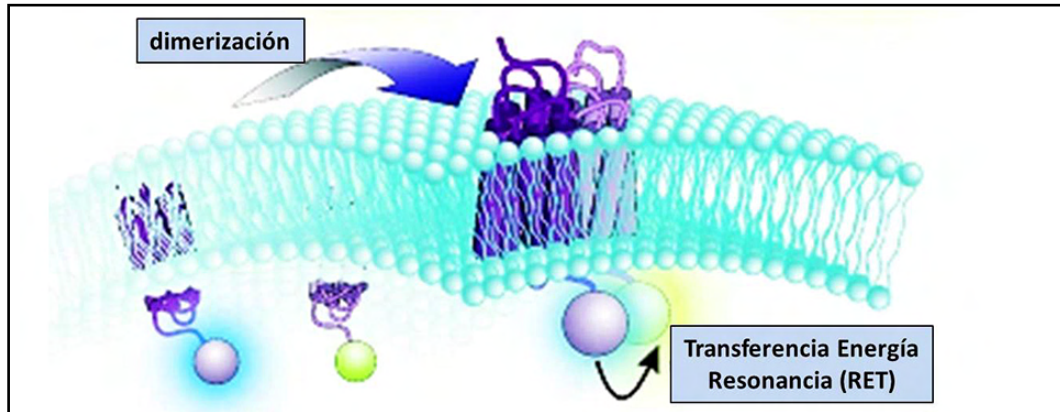


Fig. 15.5 Dimerización de GPCR (Uli Schmidt).

En la **fig. 15.6** se muestra la dimerización de GPCR.

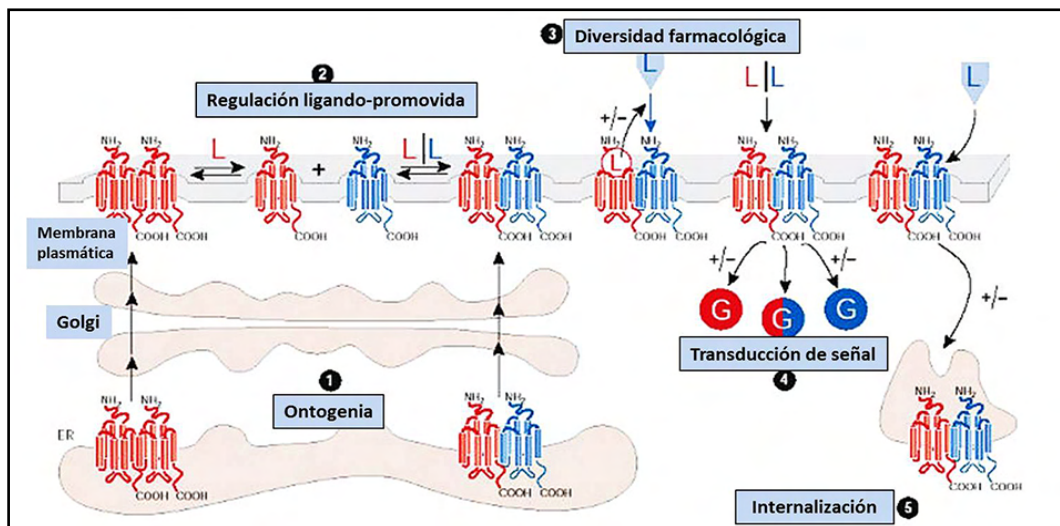


Fig. 15.6 Dimerización de GPCR (Terrillon y Bouvier).

- (1) En algunos casos se demostró que la dimerización tiene un papel principal en la maduración del receptor y permite el transporte correcto de **GPCR** desde el retículo endoplásmico (RE) a la superficie celular.
- (2) Una vez en la membrana plasmática, los dímeros pueden convertirse en el objetivo de la regulación dinámica mediante la unión del ligando.
- (3) Se propuso que la heterodimerización de **GPCR** conduce a una cooperatividad de unión de ligando positiva (+) y negativa (-).
- (4) Se puede potenciar (+) o atenuar (-) la señalización o cambiar la selectividad de la proteína G.
- (5) La heterodimerización puede promover la co-internalización de dos receptores después de la estimulación de un solo protómero. Alternativamente, la presencia de un protómero que es resistente a la endocitosis promovida por agonistas, dentro de un heterodímero, puede inhibir la internalización del complejo.

Se sabe que los **GPCR** interactúan para formar dímeros y multímeros, proceso que parece estar asociado a la funcionalidad de estos receptores. De hecho, la dimerización de los **GPCR** ocurre en el retículo endoplásmico. Sin embargo, aunque la dimerización constitutiva de estos receptores parece estar relacionada con su funcionalidad, no todos los **GPCR** exhiben el mismo grado de dimerización y no se conoce en profundidad cómo afecta esto a su funcionalidad. Dos o más subtipos de **SSTR** suelen coexpresarse en un mismo tipo celular, incluidos los diferentes tipos de adenomas hipofisarios. Los **SSTR** son capaces de formar homo/heterodímeros, pero no todos los subtipos presentan la misma capacidad para interactuar. El **SSTR2** es el

receptor más expresado y distribuido. La dimerización constitutiva del **SSTR2** se disocia tras la unión de su ligando endógeno (**SST**). Por su parte, otro de los receptores expresado a nivel hipofisario: el **SSTR5**, presenta un comportamiento opuesto al **SSTR2**, ya que no parece dimerizar tras su síntesis, pero sí en respuesta a su ligando natural (**SST**). En el caso del **SSTR1**, se sintetizaría en estado monomérico que no es alterado por la presencia de ligandos. La capacidad de los receptores **SSTR3/4** humanos de formar homodímeros no ha sido explorada aún. Se sabe que dos o más subtipos de **SSTR** se suelen coexpresar en un tipo celular concreto y, por ello, los eventos de heterodimerización de los **SSTR** pueden tener gran relevancia. Aunque no se han estudiado las interacciones entre todas las parejas de **SSTR**, en el caso de los **SSTR** humanos, se ha descrito la interacción entre el **SSTR1** y el **SSTR5**. La sobreexpresión de ambos receptores en líneas celulares aumenta la afinidad por el ligando natural (**SST**), además de alterar su internalización y señalización.

La **somatostatina** y la **dopamina** son dos sistemas neurotransmisores que comparten una serie de características estructurales y funcionales y están colocalizados en subgrupos neuronales. La somatostatina participa en la modulación del control de la actividad motora mediado por la dopamina. Se demostró que el receptor de dopamina **D2R** y el receptor de somatostatina **SSTR5** interactúan físicamente a través de la oligomerización para crear un receptor novedoso con actividad funcional mejorada. Se evidencia que los receptores de diferentes familias de receptores acoplados a la proteína G interactúan a través de la oligomerización (Rocheville y col., 2000).

En la **fig. 15.7** se muestran principales cascadas de señalización intracelular:

A. Asociadas a receptores de somatostatina en células pituitarias. La unión de la somatostatina (o análogos de la somatostatina) a los receptores de somatostatina inhibe: *adenilil ciclasa*, *activa los canales de K⁺* y/o *inhibe los canales de Ca²⁺*. Las fosfotirosina fosfatasas y la proteína quinasa activada por mitógenos también se modulan y, junto con la estimulación de la fosfotirosina fosfatasa, también pueden producir acciones citostáticas. Se demostró un aumento de la *apoptosis* a través de **p53**. La mayoría de estos efectos están mediados por **proteínas G**.

B. Asociadas a la activación de receptores de dopamina en células pituitarias. La dopamina (o agonistas de la dopamina) se une a receptores **D2** hipofisarios que inhiben el metabolismo de la *adenilil ciclasa*, *fosfatidilinositol*, activan los *canales de K⁺* y disminuyen las corrientes de *Ca²⁺*, modula la actividad de la *fosfolipasa C*, activa la *proteína quinasa* vía mitogénica y por señales extracelulares. La expresión del factor de transcripción **POU1F1** se inhibe mediante la activación de los receptores **D2**, ejerciendo un control negativo sobre la expresión del gen **PRL**. La mayoría de estos efectos están mediados por **proteínas G**.

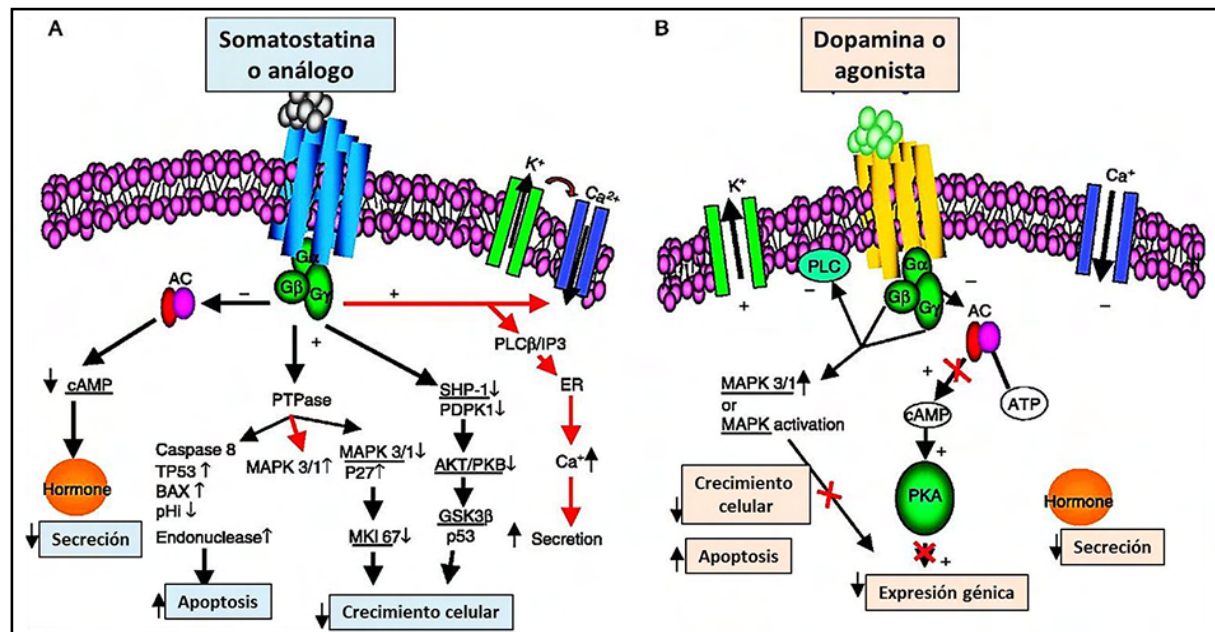


Fig. 15.7 Señalización intracelular asociada a receptores de somatostatina y dopamina. (J Mol Endocrinol).

AC, adenil ciclasa; **RE**, retículo endoplásmico; **ERK**, quinasa regulada por señales extracelulares; **GSK3β**, glucógeno sintetasa quinasa 3β; **MAPK**, proteína quinasa activada por mitógenos; **Gα**, **Gβ** y **Gγ**, subunidades de proteína G; **PDPK1**, proteína quinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositido; **pHi**, pH intracelular; **PLC**, fosfolipasa C; **PKA**, proteína quinasa A; **PTPasa**, fosfotirosina fosfatasa.

A. Asociadas a la activación de receptores de somatostatina en células pituitarias.

B. Asociadas a la activación de receptores de dopamina en células pituitarias.

Los receptores de somatostatina (**SST1-5**) están presentes en diferentes tipos de tumores, donde inhiben procesos celulares clave como la proliferación y la invasión. Se identificó una nueva variante de **SST5 truncada**, **SST5 TMD4**, que está relacionada con la respuesta anormal de ciertos tumores hipofisarios al tratamiento con análogos de somatostatina (Durán-Prado y col., 2012).

Los *receptores de somatostatina* (**hSSTR2**) y *dopamina* (**hD2R**) están bien expresados y co-localizados en varias regiones del cerebro, lo que sugiere la posibilidad de interacciones funcionales. A fin de estudiarlos se utilizó la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia de fotoblanqueo y bioquímica (pbFRET) para determinar las interacciones funcionales entre ambos receptores. Los hallazgos sugieren que operan como *heterodímeros* funcionales modulados por ligandos *in situ*, lo que puede resultar un modelo útil en el diseño de nuevos fármacos terapéuticos. La heterodimerización inducida por agonistas se acompañó de una mayor afinidad por la dopamina y la señalización aumentada de **hD2R**, así como una internalización prolongada de **hSSTR2**. Por el contrario, las neuronas estriatales cultivadas mostraron heterodimerización constitutiva entre **D2R** y **SSTR2**, que eran independientes de los agonistas (Baragli y col., 2007).

Las *variantes truncadas del receptor SSTR5* (**SSTR5TMD4** y **SSTR5TMD5**), las cuales están expresadas en tumores hipofisarios junto con otros **SSTR**, también parecen jugar un rol crucial en los eventos de heteromultimerización entre los **SSTR**. Los **SSTR** también pueden interactuar con miembros de otras familias de receptores, aumentando la complejidad de esta red de interacciones. En concreto, **SSTR5** y **SSTR2** son capaces de interactuar con el receptor de dopamina 2 (**D2**), formando heterodímeros con capacidad de señalización e internalización. También se ha demostrado la interacción entre el receptor **SSTR2** y el receptor de *opioides*, originando heterodímeros con capacidades de fosforilación, internalización y desensibilización diferentes en respuesta a ligandos específicos dirigidos a **SSTR2** o al receptor de opioides (Pfeiffer y col., 2002).

La *somatostatina* (**SST**) y la *cortistatina* (**CORT**) actúan a través de una familia de 7 receptores de dominio transmembrana (**TMD**) (**SST1-5**) para gobernar múltiples funciones, desde la secreción de la *hormona del crecimiento* (GH) hasta la neurotransmisión, la homeostasis metabólica, la función gastrointestinal e inmune, y crecimiento de células tumorales. Se han identificado nuevas variantes de **SST5** en humanos, cerdos, ratones y ratas que carecen de uno o más **TMD** y muestran características moleculares y funcionales. Las variantes de **SST5** truncadas se colocan e interactúan físicamente con **SST** de longitud completa, proporcionando una base molecular para interrumpir el funcionamiento normal de **SST2/SST5**. Esto puede explicar la correlación inversa entre la expresión de **HSST5 TMD4** en tumores pituitarios y la respuesta a octreótido en la acromegalia (Córdoba-Chacón y col., 2011).

15.6 Actividad de los receptores de somatostatina independiente del ligando

Numerosos **GPCR** muestran actividad constitutiva independiente de la unión a un ligando, siendo capaces de desencadenar ciertas señales intracelulares en ausencia de dicho ligando (Seifert y col., 2002).

Se sugirió que los receptores **SSTR** tienen cierta capacidad para ejercer actividad constitutiva, aunque dicho proceso aún no se ha demostrado *in vivo*. La reducción parcial de la expresión de **SSTR 2/3/5** en células hipofisarias tumorales AtT20 productoras de ACTH resulta en una elevación de las concentraciones basales de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) intracelulares y el aumento de la secreción de ACTH (Ben-Shlomo y col., 2007). La somatostatina se une a los subtipos de receptores SRIF acoplados a proteína G (**SST1/2/3/4/5**) para regular la secreción y proliferación celular. El SRIF hipotalámico inhibe la secreción GH, TSH y ACTH. La sobreexpresión del receptor **SSTR2** o **SSTR5** reduce la respuesta celular al estimulador clásico de la secreción de ACTH (CRH). Por lo tanto, la regulación integrada de la ACTH de las células pituitarias está determinada tanto

por la acción fásica del **SRIF** como por la actividad tónica constitutiva de la **SST**, independiente del **SRIF** (Ben-Shlomo y col. 2009).

La **fig. 15.8** muestra los transfectantes estables **AtT20** que expresan la etiqueta ZsGreen, los gránulos de ACTH y los ARNm de **hSST** que marcan proteínas de **hSST**.

- A:** Células ZsGreen expresan gránulos que contienen ACTH.
- B:** Células ZsGreen de control transfectadas de forma estable que representan la heterogeneidad de célula a célula de la expresión de la etiqueta fluorescente ZsGreen.
- C:** La expresión de ARNm de **C: hSST2** y **hSST5** evaluada mediante PCR cuantitativa en tiempo real en cada uno de los tres clones celulares demuestra la selectividad del receptor. Los ensayos de expresión génica SST2 TaqMan de ratón y humano detectaron transcritos derivados de ambas especies, lo que refleja una alta homología de ARNm entre SST2 de ratón y humano.

Se detectaron ARNm de **mSST2**, **mSST3** y **mSST5** en todos los clones; sin embargo, los niveles del receptor murino endógeno no fueron alterados por la respectiva sobreexpresión del receptor humano. Los niveles de amplicón se corrigieron a los controles de GAPDH y los experimentos se repitieron por triplicado para cada generación de clones. Los resultados se representan como media \pm sem; ZsGreen, controla las células AtT20 que expresan el fluoróforo ZsGreen solo; hSST2IZ, células AtT20 que coexpresan hSST2 y ZsGreen; hSST5IZ, células AtT20 que coexpresan hSST5 y ZsGreen (Ben-Shlomo y col. 2009).

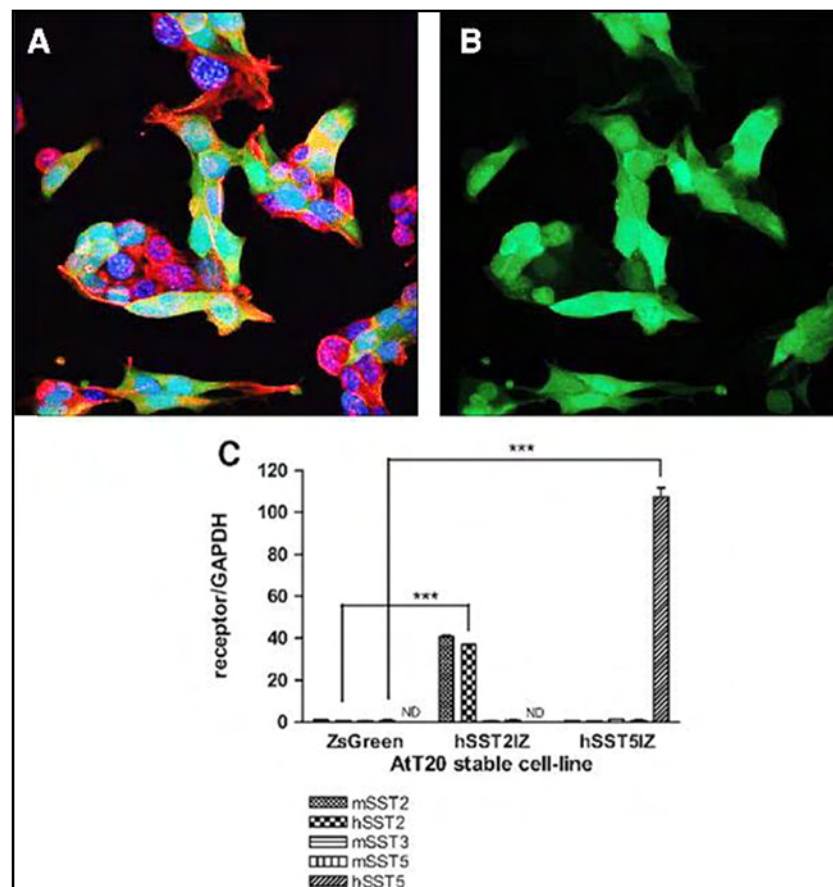


Fig. 15.8 Los transfectantes estables **AtT20**. Microscopía confocal fluorescente. **ADN**, azul; **ZsGreen**, verde; **ACTH**, rojo (Ben-Shlomo y col. 2009).

En la **fig. 15.9** se presentan los transfectantes estables AtT-20 expresan selectivamente proteínas **hSST2** y **hSST5** que se localizan en las membranas celulares de hSST2IZ y hSST5IZ.

El tratamiento con el agonista selectivo de **SST2**, **BIM23120** (100 nm), provoca la agregación de **hSST2** y la internalización del receptor.

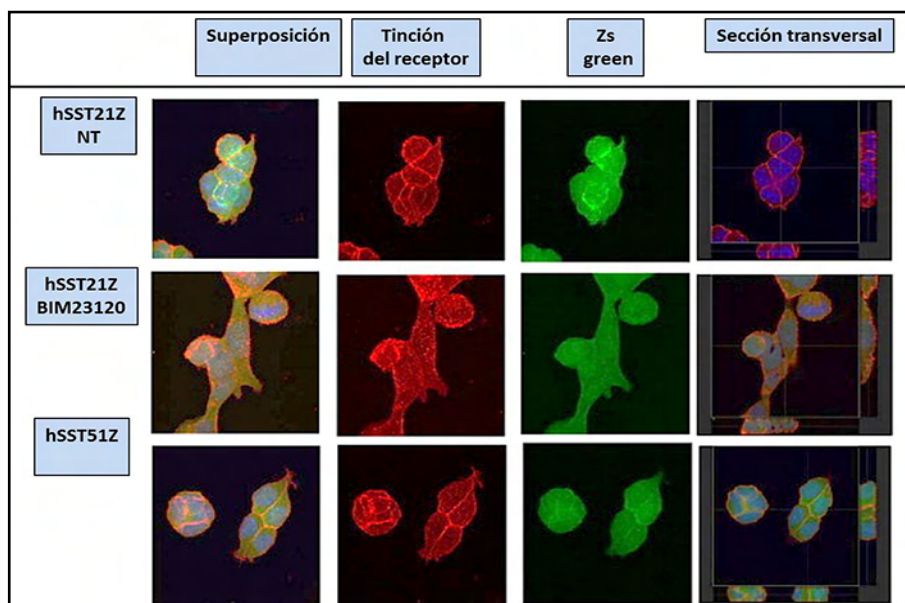


Fig. 15.9 Microscopía confocal. ADN: azul; ZsGreen: verde; receptores: rojo. NT: no tratado. (Ben-Shlomo y col. 2009).

En la **fig. 15.10** se ve el aumento de la expresión de **hSST2** y **hSST5** que mejora la sensibilidad celular a los agonistas de **SRIF** selectivos del receptor. Los transfectantes se trataron con agonistas selectivos de **SST2** de alta afinidad, incluidos **BIM23120** (agonista selectivo de **SST2**), octreótido (afinidad de unión: **SST2** > **SST5**) y **BIM23244** (afinidad de unión: **SST2** = **SST5**) o agonistas de **SST5**, incluido **BIM23106** (agonista selectivo de **SST5**) y **BIM23244**. Las células se sembraron en pocillos cuadruplicados y la forskolina (10 μ m) y IBMX (1 mm) fueron usados en todos los pozos (F, forskolina control). Las células se trataron durante 30 min y se analizaron por triplicado. El eje y representa el cambio porcentual del nivel de AMPc desde el control de forskolina respectivo. Los valores representan la importancia del cambio en el porcentaje de AMPc en comparación con las células ZsGreen de control. Los resultados se representan como media \pm sem, ** P <0,01; *** P <0,001 (ANOVA de dos factores).

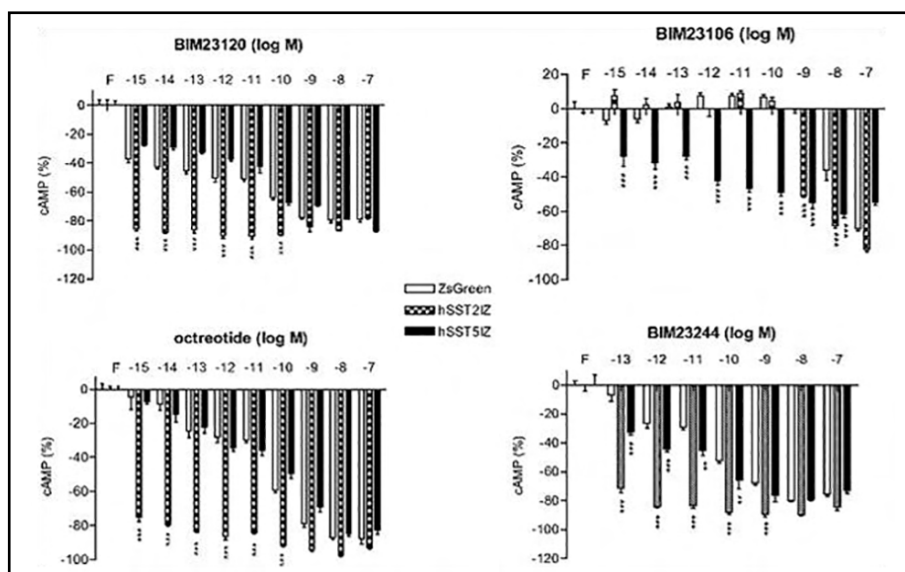


Fig. 15.10 Expresión de hSST2 y hSST5 (Ben-Shlomo y col. 2009).

En los somatotropinomas, la hipersecreción de GH puede ser inhibida por análogos de la somatostatina como el octreótido, pero los niveles séricos de GH alcanzan valores normales solo en el 60% de los pacientes tratados. La reexpresión de **SST2** puede mejorar la sensibilidad a octreótido (Acunzo y col., 2008).

La somatostatina envía señales a través del subtipo 2 del receptor de somatostatina (**SSTR2**) para atenuar la liberación de GH. Se analizó la regulación de GH en células tumorales somatotropas de rata, que expresan **SSTR2** exclusivamente y carecen de ligando de somatostatina endógeno. Se demostró que la sobreexpresión de **SSTR2** estuvo asociada a una disminución de la actividad del promotor de GH, el ARNm de GH y los niveles hormonales en comparación con los de los transfectantes de control. Además, la expresión de **SSTR2** moderadamente aumentada disminuye constitutivamente la síntesis de GH, un efecto parcialmente mediado por la desacetilación de histonas del promotor de GH (Ben-Shlomo y col., 2013) (figs. 15.11-15.12).

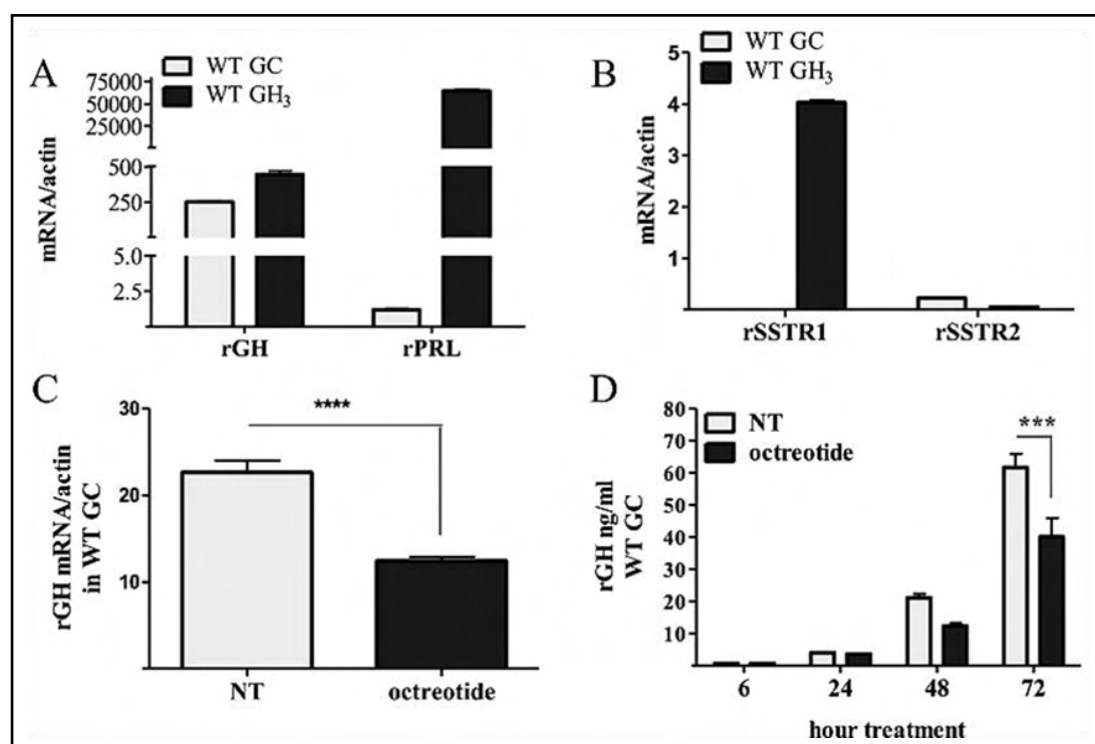


Fig. 15.11 Caracterización celular (Ben-Shlomo y col. 2013).

A y B: Caracterización comparativa de la expresión génica de GH, PRL, SSTR1 y SSTR2 en células WT GC y GH₃ no tratadas cultivadas en DMEM enriquecido con FBS al 10%. Se recogió el ARN y se realizó TaqMan qRT PCR.

C: Expresión del gen de GH de rata en células WT GC tratadas con octreótido o vehículo (100 nM; diariamente durante 3 días consecutivos), después de lo cual se recogió el ARN y se analizó mediante TaqMan qRT PCR.

D: Niveles de péptido GH de rata medidos por RIA en medio WT GC con o sin octreótido (100 nM). *** p < 0,001; **** P < 0,0001. NT, no tratado.

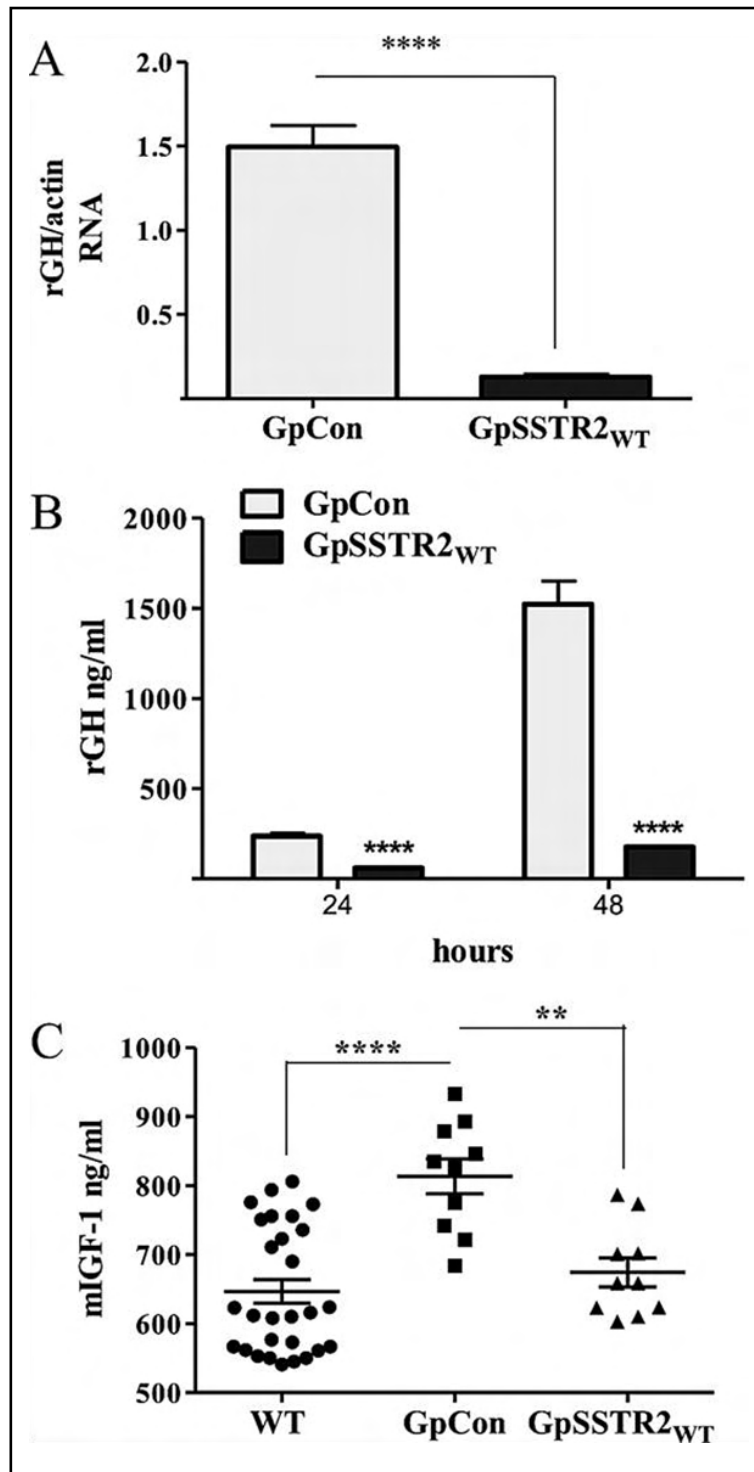


Fig. 15.12 Efectos de la sobreexpresión de SSTR2 sobre la expresión de GH basal (Ben-Shlomo y col. 2013).

A: Niveles de ARNm de GH 48 horas después de la siembra.

B: Niveles de GH medidos en el medio de células GpCon y GpSSTR2_{WT} a las 24 y 48 horas después de la siembra en placa.

C: Niveles de IGF-I (m-IGF-1) en suero de ratón en ratones SCID antes (n = 30) y 30 días después de la inoculación de tumores GpCon (n = 10) o tumores GpSSTR2_{WT} (n = 10). Un total de 200.000 células se suspendieron en 100 μ L de PBS y Matrigel y se inyectaron sc. Se midió IGF-I. ** p <0,01; **** P <0,0001. NT, no tratado.

Existe un control hipofisario multifactorial bien establecido. Como en otros sistemas celulares, la integración de mensajes complejos implica interacciones dinámicas de receptores y mecanismos de acoplamiento. Se demostró que la regulación de las secreciones adenohipofisarias implica la producción de **AMPC**, la modulación de la degradación del **fosfato de fosfatidilinositol** y la movilización de **Ca²⁺**. Los *receptores de dopamina, somatostatina y angiotensina II* están acoplados negativamente a la **adenilato ciclasa** en las células de la hipófisis anterior. En el caso de la **angiotensina**, este efecto sobre la **adenilato ciclasa** parece paradójico, ya que el péptido estimula notablemente la secreción de PRL. Además, la **angiotensina II** también estimula la producción de **fosfato de inositol** y este efecto podría explicar la secreción de hormonas. La **dopamina** podría inhibir la producción de **fosfato de inositol** estimulada por la **angiotensina II** y la **TRH**. La dopamina y la somatostatina también modulan los **canales de calcio** dependientes de voltaje, quizás a través de un acoplamiento directo con los canales de K⁺. En conclusión, los **receptores de dopamina y somatostatina** aparecen acoplados a varios mecanismos de transducción a través de **proteínas G** en las células de la pituitaria anterior (Enjalbert, 1989).

15.7 Vías de señalización reguladas por los receptores de somatostatina

La unión de un ligando, endógeno o farmacológico, a los diferentes subtipos de **SSTR** produce un cambio conformacional en los mismos, lo que conlleva la activación de determinadas proteínas G heterotriméricas asociadas y la posterior activación de un conjunto de vías de señal específicas. El factor inhibidor de la liberación de somatotropina (**SRIF**) es un importante regulador de la función pituitaria, principalmente inhibe la secreción de hormonas y el crecimiento celular, lo que le confiere alcances terapéuticos (Ben-Shlomo y col., 2010). En la hipófisis se expresan **SSTR 1/2/3/5**, predominando **SSTR2** y **SSTR5**. Elucidar la señalización del receptor **SRIF** hipofisario permite comprender la secreción de la hormona hipofisaria y el crecimiento celular, y también fomenta el desarrollo terapéutico futuro para los trastornos hipofisarios (Ben-Shlomo y Melmed, 2010).

Los receptores acoplados a proteínas G (**GPCR**) son una clase importante de proteínas activadas por ligandos que regulan el metabolismo celular. El fenotipo celular modula tanto la afinidad como la eficacia de los agonistas endógenos y los compuestos sintéticos. Los datos emergentes sugieren una función compleja de la señalización de **GPCR** que da como resultado respuestas tisulares específicas. Diferentes subtipos de **SSTR** se encuentran coexpresados en proporciones diferentes en un mismo tipo celular y, por tanto, la señal predominante que se ve activada en respuesta a un ligando específico depende de la distribución celular específica de los diferentes **SSTR**, así como de los elementos señalizadores (Eglen, 2005).

El uso terapéutico exitoso de los análogos de **SST** en el tratamiento de estos tumores depende de un conocimiento profundo de los subtipos de **SSTR** en diferentes tejidos. Se debe considerar:

- 1) Los **SSTR** pueden formar homo/heterodímeros con otros receptores, proceso muy específico y crucial para sus propiedades de señalización y funcionalidad.
- 2) Algunos **SSTR** tienen actividad constitutiva, ya que poseen la capacidad de adoptar una conformación activa sin necesidad de ser activados por un ligando.
- 3) La señalización de los **SSTR** puede estar también regulada por procesos intracelulares de tráfico y endocitosis de receptores. Por ello, resulta fundamental determinar las rutas de señal específicas que son activadas por cada uno de los subtipos de **SSTR** (Durán Prado y col., 2008; Cakir y col., 2010: **figs. 15.13-15.14**).

En la **fig. 15.13** se presenta un diagrama simplificado de la vía **Ras/ERK** y los efectos de la **SST** a través de **PTP**, **SHP-1** y **SHP-2**. Las líneas amarillas muestran la activación, las líneas rojas muestran la inhibición de la proteína correspondiente. Nótese la inhibición de **SHP-1** y **SHP-2** de los receptores del factor de crecimiento, la inhibición de **SHP-1** de **ERK 1/2**, la inhibición de **SHP-2** de la quinasa **Raf** mostrada en líneas azules. **Src** y **SHP-2** activan **SHP-1**. Como resultado, **SHP-1** y **SHP-2** hacen que las células se acumulen en la fase **G1** e inhiban la entrada en la fase **S** del ciclo celular.

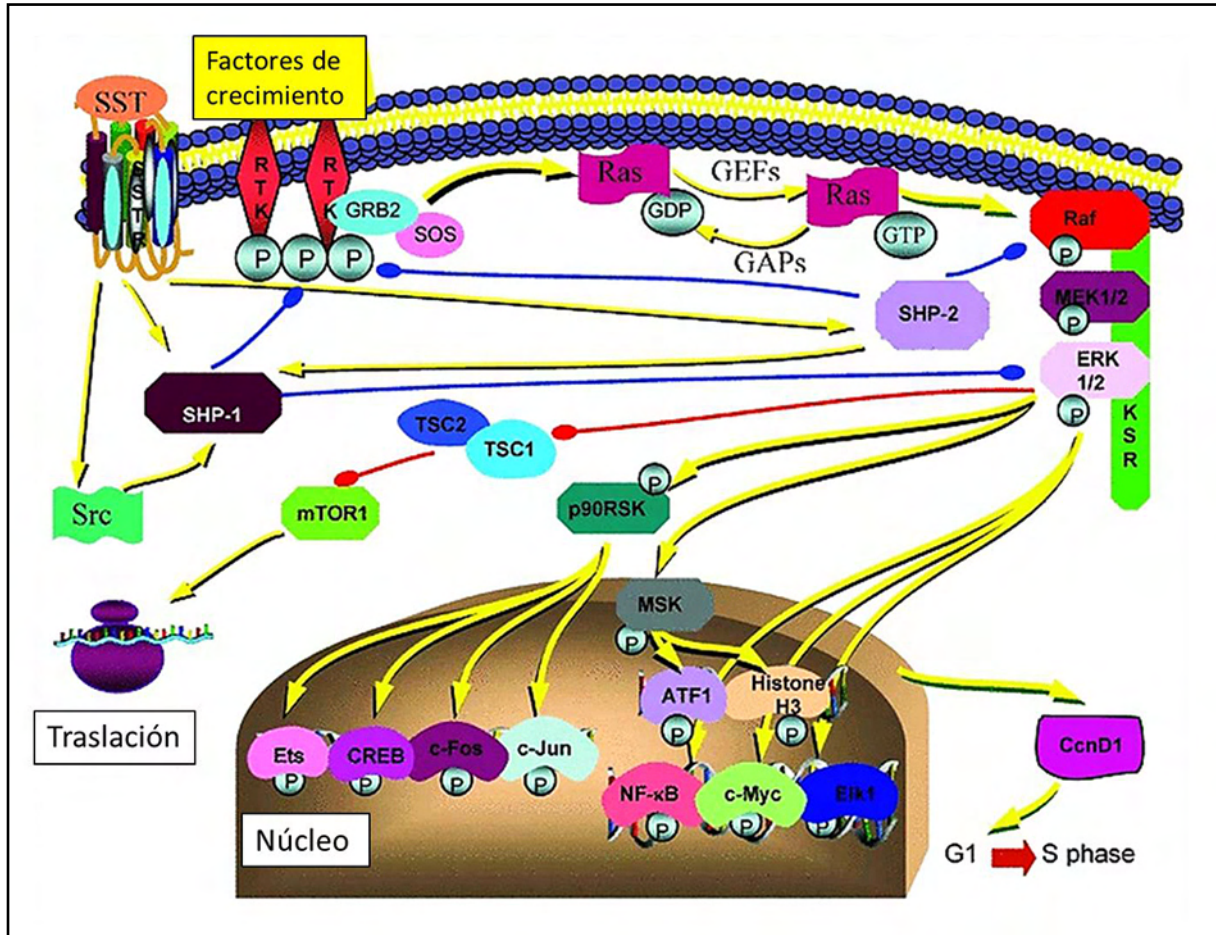


Fig. 15.13 Diagrama de la vía **Ras/ERK** y los efectos de la **SST** a través de **PTP**, **SHP-1** y **SHP-2** (Cakir y col.).

Las puntas de flecha muestran activación, las líneas en negrita con cabezas redondeadas muestran inhibición de la proteína correspondiente. Obsérvese la inhibición directa del receptor del factor de crecimiento y la inhibición indirecta de la vía **Akt** por **SHP-1** mostrada en líneas de puntos.

Como resultado, **SHP-1** causa una regulación positiva de **p21cip1/waf1** y **p27kip1** y el gen supresor de tumores **Zac1** y la activación de la **caspasa 8** y la proteína proapoptótica **Bax**.

ATF1, factor de transcripción activador; **CcnD1**, ciclina D1; **CREB**, proteína de unión a elementos sensibles al cAMP; **ERK**, proteína quinasa regulada por señales extracelulares; **GAP**, proteína activadora de GTPasa; **GEF**, factor de intercambio de nucleótidos de guanina; **GRB2**, proteína de unión al receptor del factor de crecimiento 2 (IGF-2); **KSR**, supresor de quinasa de Ras; **mTOR**, diana de rapamicina en mamíferos; **MEK**, proteína activada por mitógenos/quinasa regulada por señal extracelular (**ERK**) quinasa; **MSK**, quinasa activada por mitógeno y estrés; **NF-κB**, factor nuclear-κB; **p90RSK**, quinasa p90 ribosomal S6; **RTK**, receptor de tirosina quinasa; **Src**, tirosina quinasa citosólica; **SHP-1**, dominio SH-1 que contiene tirosina fosfatasa 1 citosólica; **SHP-2**, dominio SH-2 que contiene tirosina fosfatasa 2 citosólica; **SOS**, mamífero hijo de 7 sin; **SST**, somatostatina; **SSTR**, receptor de somatostatina.

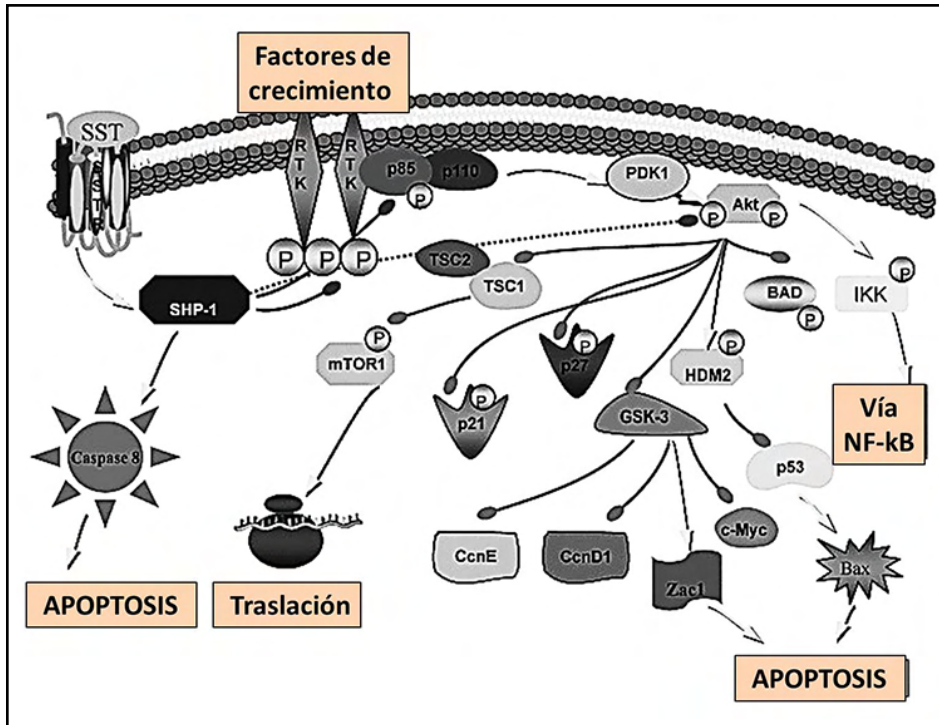


Fig. 15.14 Diagrama de la vía PI3K/Akt y los efectos de la SST a través de PTP SHP-1 (Cakir y col.). **BAD**, BCL2-antagonista de la muerte; **CcnD1**, ciclina D1; **CcnE**, ciclina E; **ERK**, proteína quinasa regulada por señales extracelulares; **HDM2**, homólogo humano de ubiquitina ligasa de doble minuto murina; **GSK-3**, glucógeno sintasa quinasa-3; **IKK**, IκB quinasa; **mTOR**, diana de rapamicina en mamíferos; **NF-κB**, factor nuclear-κB; **p21**, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina p21Cip1/WAF1; p27, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina p27Kip1 ; **PDK1**, quinasa 1 dependiente de fosfoinosítido; **RTK**, receptor de tirosina quinasa; **SHP-1**, dominio SH-1 que contiene tirosina fosfatasa 1 citosólica; **SST**, somatostatina; **SSTR**, receptor de somatostatina.

La función más conocida de la SST y sus análogos a nivel hipofisario es la de inhibir la secreción hormonal (exocitosis vesicular) estimulada por diferentes reguladores hipofisarios primarios (hormona liberadora de GH: GHRH, grelina, etc.). En este sentido, hoy en día se conoce bien que el efecto inhibidor está directamente asociado a la alteración en las concentraciones de Ca^{2+} intracelular mediada por las proteínas Gai/o (Ben-Shlomo y Melmed, 2010).

La pituitaria anterior es una glándula heterogénea compleja que ejerce un papel central en la integración de varios sistemas reguladores. Sus 6 hormonas clave afectan las glándulas periféricas o los tejidos diana y son esenciales para la reproducción, el crecimiento y el desarrollo, el metabolismo, la adaptación a los cambios ambientales externos y el estrés. (Gahete y col., 2009; Sam y Frohman, 2008).

La SST ejerce sus acciones inhibitoras sobre las células hipofisarias mediante la apertura de **canales de K^+** a los que están acoplados todos los **SSTR**, excepto al receptor **SSTR3**. El receptor **SSTR2** está involucrado en la regulación de las corrientes de Ca^{2+} dependientes de voltaje por SRIF, lo que contribuye a la disminución de la concentración de Ca^{2+} intracelular y la secreción de GH por **SRIF** (Yang y col., 2007).

La secreción de GH es inhibida por la somatostatina hipotalámica (**SRIF**) en las somatotropas a través de 5 subtipos del receptor de la somatostatina (**SSTR1-SSTR5**). La apertura de dichos canales de K^+ provoca una hiperpolarización de la membrana celular y el cierre de los canales de Ca^{2+} sensibles a voltaje tipo N y L, lo que se traduce en una disminución de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular y la consecuente inhibición de la secreción hormonal (Ben-Shlomo y Melmed, 2010). El tratamiento

con CORT puede ejercer tanto efectos inhibidores como estimuladores sobre las concentraciones de Ca²⁺ intracelular en células hipofisarias en cultivo, lo cual podría estar asociado a la respuesta diferencial que la CORT puede ejercer sobre las células somatotropas y corticotropas (respuesta inhibidora) con respecto a las lactotropas (respuesta estimuladora) (Córdoba-Chacón y col., 2011). En las figs. 15.15-15.16 se ve la regulación de los ejes somatotro, lactotropo y corticotropo.

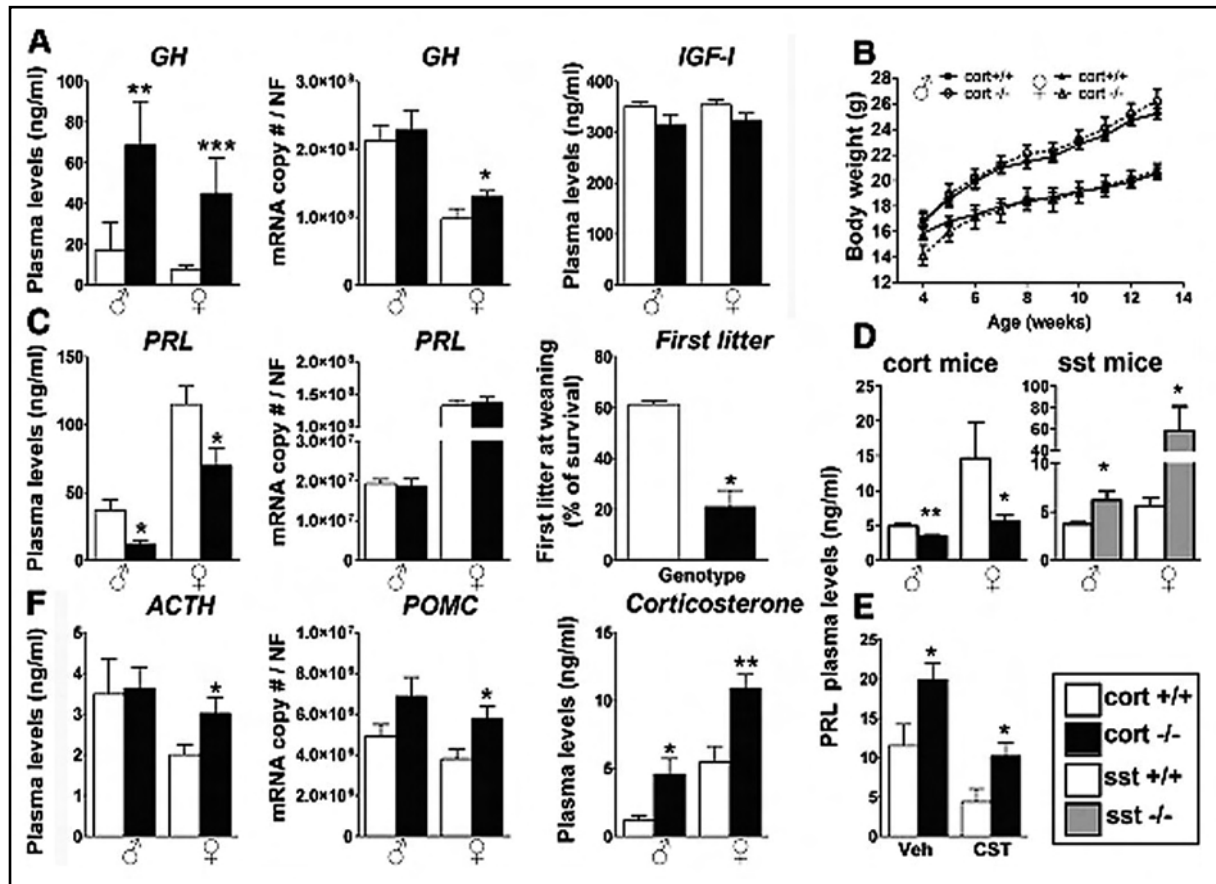


Fig. 15.15 Regulación de los ejes somatotro, lactotropo y corticotropo en ratones machos y hembras de tipo salvaje (cort +/+, columnas abiertas) frente a cort -/- (columnas negras) (Córdoba-Chacón, 2011).

A. Liberación de GH basal (izquierda), expresión de GH (centro) y niveles de IGF-I circulante (derecha). **B.** Curvas de crecimiento de machos y hembras cort +/+ (líneas continuas) y cort -/- (línea punteada) compañeros de camada de 4 a 13 semanas de edad. **C.** Liberación de PRL basal (izquierda), expresión de PRL (centro) y porcentaje de supervivencia de la primera camada de hembras cort +/+ (columna abierta) frente a cort -/- (columna sólida) ratones (derecha). **D.** Liberación de PRL basal en un segundo grupo de cort +/+ masculinos y femeninos (columnas abiertas) y cort -/- (columnas negras) en comparación con sst +/+ masculinos y femeninos (columnas abiertas) y sst -/- (columnas grises). **E.** Niveles basales de PRL en ratones hembras cort +/+ y cort -/- infundidos con vehículo (Veh) e infundidos con CST14 (CST) durante 7 días mediante bombas osmóticas. **F.** liberación de hormona ACTH basal (izquierda), expresión de POMC (centro) y niveles de corticosterona circulante (derecha) (* P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001).

La **fig. 15.16 muestra los** componentes hipofisarios implicados en la regulación de los ejes somatotropo, lactotropo y corticotropo en ratones cort $-/-$ y cort $+/+$.

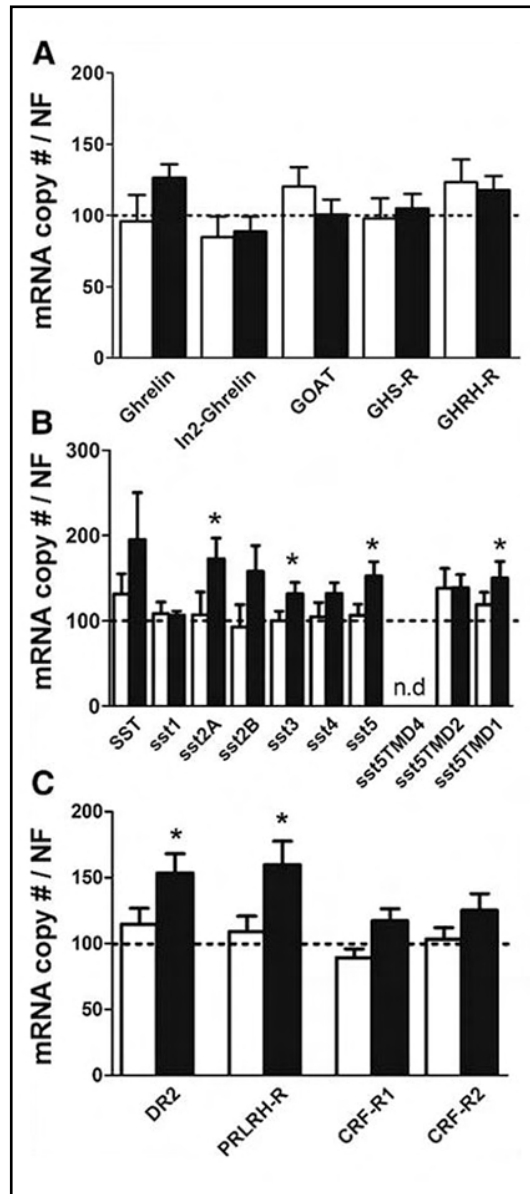


Fig. 15.16 Expresión de componentes hipofisarios implicados en la regulación de los ejes somatotropo, lactotropo y corticotropo en ratones cort $-/-$ y cort $+/+$. (Córdoba-Chacón, 2011).

A. Expresión de grelina, In2-grelina, CABRA, receptor de grelina (GHS-R) y GHRH-R.

B. Expresión de las isoformas/variantes (sst) de los receptores SST y SST.

C. Expresión de D2, receptor de hormona liberadora de PRL (PRLRH-R) y CRF-R1 y CRF-R2 en ratones cort $-/-$ machos (columnas abiertas) y hembras (columnas sólidas). Los valores se muestran como porcentaje relativo de ratones cort $-/-$ machos o hembras frente a ratones control (cort $+/+$) (mostrados por la línea de puntos establecida en 100%) y representan la media \pm sem. Asterisco (* $P < 0.05$) indica valores que difieren significativamente de cort $+/+$ dentro del género.

15.8 SST e inhibidores de adenilato ciclasa y adenosín monofosfato cíclico (AMPC)

SST y sus análogos también son conocidos por ser inhibidores de la actividad basal y estimulada de la **adenilato ciclasa** y de los niveles de **AMPC** en la hipófisis acompañado de una disminución en la liberación hormonal, aunque también de una inhibición en la proliferación celular (Ben-Shlomo y Melmed, 2010). En dicho efecto inhibitorio de la SST sobre la actividad **adenilato ciclasa** y los niveles de **AMPC** parecen estar involucrados todos los subtipos de **SSTR**, en especial el receptor **SSTR2** a través de la activación de proteínas **Gai/o** (Durán-Prado y col., 2007; Córdoba-Chacón y col., 2012). Se demostró que la somatostatina y la cortistatina actúan directamente sobre las somatotropas para inhibir la liberación de GH. Se desconoce si la reducción de **AMPC** y la inhibición de las concentraciones de Ca^{2+} se llevan a cabo de manera independiente para producir una inhibición de la secreción hormonal hipofisaria, puesto que ambos procesos celulares ocurren tras la unión del ligando a los **SSTR** y que la activación de ambas rutas de señal son dependientes de proteínas **Gai**. Varios estudios han demostrado que la SST, dependiendo de la dosis utilizada, también es capaz de estimular las concentraciones de **AMPC** en células hipofisarias de varias especies y dicho efecto estimulador está asociado a un incremento en la secreción de GH a través del receptor **SSTR5**. Los resultados demostraron que el impacto final de la somatostatina/cortistatina en la liberación de hormonas es dependiente de la dosis, selectivo del tipo de célula y específico del receptor (Córdoba-Chacón y col., 2012).

15.9 Somatostatina (SST) y las fosfotirosina fosfatasa (PTP)

La activación de las fosfotirosina fosfatasa (**PTP**) por el receptor de somatostatina (**SSTR**) representa uno de los principales mecanismos intracelulares implicados en el efecto antiproliferativo de la SST y sus análogos. El rol de las **PTP** está emergiendo como un importante regulador de diferentes funciones celulares: proliferación celular, diferenciación, interacciones célula a célula, adhesión a la matriz celular y migración celular. Las **PTP** se identificaron como efectores descendentes de los **SSTR** para transducir señales antiproliferativas y 3 miembros de la familia (**SHP-1**, **SHP-2** y **DEP-1/PTPeta**) se han identificado como efectores intracelulares selectivos de **SSTR**. Las **PTP** transducen la detención del crecimiento de las células tumorales después de la administración de análogos de SST (Florio, 2008).

La SST limita el crecimiento celular al inhibir la actividad proliferativa de los receptores del factor de crecimiento. Se demostró que en células tumorales hipofisarias, el análogo de somatostatina *octreótido* produce su acción antiproliferativa al inducir la expresión del gen supresor de tumores **ZAC1**. La eliminación de **ZAC1** por interferencia del ARN abolió el efecto antiproliferativo de *octreótido* en las células tumorales pituitarias, lo que indica que **ZAC1** es necesario para la acción de *octreótido*. Los análogos de la somatostatina producen en las células tumorales una acción antiproliferativa actuando sobre la vía de señalización **PI3K/Akt** y aumentando la expresión del gen **ZAC1** (Theodoropoulou y col., 2006). Además, el efecto estimulador de la *apoptosis celular* en respuesta a análogos y agonistas del receptor **SSTR2** (*octreótido* y **BIM23120**) en somatotropomas es bloqueado en presencia de un inhibidor de **PTP**, lo que sugiere que la actividad de las **PTP** asociadas a los **SSTR** en adenomas hipofisarios podrían estar exclusivamente vinculada a efectos anti-proliferativos, sino también a efectos de inducción de muerte celular (Ferrante y col., 2006).

Se han comunicado otras rutas de señal asociadas a los **SSTR** a nivel hipofisario, entre las que se incluyen las rutas **fosfolipasa C/fosfátidos de inositol/proteína quinasa A**, proteínas quinasa activadas por mitógenos (**MAPK**), óxido nítrico (**ON**), guanilato ciclasa/guanosín monofosfato cíclico (**GMPC**), fosfatidoinositol-3-quinasa/Akt/mTOR, **Wnt/ β -catenina**, **NF- β /JNK/caspasas**, etc. Sin embargo, los datos sobre la relevancia fisiológica de estas rutas de señal sobre la secreción hormonal y proliferación celular son insuficientes o contradictorios (Cervia y Bagnoli, 2007; Luque y col., 2005; Castaño y col., 2005; Gadhela y col., 2013).

15.10 Receptores de somatostatina en hipófisis y adenomas hipofisarios

Se han comunicado redes celulares hipofisarias organizadas e interdigitadas que reflejan interacciones homotípicas y heterotípicas entre células. Aunque las corticotropas aparecen en la superficie ventral de la glándula, forman hebras homotípicas de células que se extienden desde las puntas laterales de la pituitaria anterior

a lo largo de su superficie ventral hasta la glándula medial. Las gonadotropas se diferencian más tarde y se colocan muy cerca de las corticotropas y los capilares. Las imágenes tridimensionales a escala pituitaria revelan redes celulares altamente estructuradas de topología única para cada linaje pituitario. El desarrollo secuencial de redes celulares interdigitadas durante la organogénesis indica que las interacciones celulares conducen a un posicionamiento altamente ordenado en lugar de un mosaico aleatorio (Budry y col., 2011).

El ARNm de **SSTR2** y **5** se produce en cada uno de los 5 principales subconjuntos de células pituitarias, siendo el ARNm de **SSTR5** expresado de forma más amplia y abundante que **SSTR2** (Day y col., 1995).

Se intentó la caracterización farmacológica de los receptores de somatostatina (**SRIF**) ubicados en somatotropas, tirotropas y lactotropas midiendo los efectos de 14 agonistas estructurales de la somatostatina (**SRIF**) sobre la inhibición de GH basal y estimulada por GRF, PRL y TSH basales y TRH. También se comprobó la capacidad de los análogos para desplazar la unión de [125I] N-Tyr-SRIF en las membranas de las células pituitarias y su potencia para inhibir la actividad de la adenilato ciclasa. Los datos demostraron que los sitios de unión a **SRIF** ubicados en las tres células diana de la adenohipófisis son de una sola clase. Estos sitios de unión están acoplados negativamente a la **adenilato ciclasa**, pero la inhibición de las secreciones hormonales por **SRIF** no puede explicarse únicamente a través de la inhibición de dicha enzima (Epelbaum y col., 1987).

La somatostatina aumenta las corrientes de K⁺ dependientes del voltaje en las células GH3 mediante la activación de los receptores de somatostatina. Los resultados indican que SSTR1-2-4-5 pueden estar involucrados en la mejora de las corrientes de K⁺ por SRIF, pero que solo la activación de SSTR2-4 da como resultado la activación completa de la corriente de K⁺ causada por SRIF (Yang y col., 2005).

Se estudió la participación de los subtipos de receptores de somatostatina en la modificación del canal iónico de la membrana de las somatotropas.

- A. La secreción de GH está regulada por dos hormonas hipotalámicas: **GHRH** y **SRIF**.
- B. El **SRIF** inhibe la secreción de GH mediante la activación de receptores de somatostatina (**SSTR**) y sistemas de transducción de señalización en somatotropas.
- C. Se han identificado 5 subtipos de **SSTR: 1 a 5**, con el subtipo **SSTR2** dividido en **A** y **B**. Todos los **SSTR** son receptores acoplados a **proteína G**.
- D. Los canales de Ca²⁺ y K⁺ regulados por voltaje en la membrana somatotrópica juegan un rol importante en la regulación de la secreción de GH y SRIF, y modifica ambos canales para reducir la concentración de Ca²⁺ libre intracelular y la secreción de GH.
- E. Se crearon *agonistas específicos* del subtipo SSTR (Yang y Cheng, 2007).

Las corticotropas de la hipófisis normal y tumoral expresan **SST2** y **SST5**, siendo predominante el receptor **SST5**. La somatostatina inhibe la secreción de ACTH *in vitro*, pero su sensibilidad está regulada por los glucocorticoides. En pacientes con insuficiencia suprarrenal, la somatostatina y los análogos que prefieren **SST2**, como el octreótido, pueden reducir los niveles de ACTH y cortisol circulantes. La somatostatina que prefiere los **SST2** parece no ser eficaz para reducir los niveles de ACTH y cortisol en pacientes con enfermedad de Cushing (EC) no tratada (niveles de cortisol circulante altos). Es probable que esto se deba a la regulación a la baja de los receptores **SST2** por los glucocorticoides. La expresión del receptor **SST5** es más resistente al efecto inhibitorio de los glucocorticoides (Hofland y col., 2010).

Los análogos de la somatostatina (**SRIF**) se han empleado en la terapia médica de los adenomas hipofisarios no funcionantes, con variados resultados. La evidencia mostró que **SRIF** puede ejercer sus efectos antiproliferativos al reducir la secreción y acción del factor de crecimiento endotelial vascular (**VEGF**), y que la expresión de VEGF puede estar relacionada con el crecimiento del tumor hipofisario. Se estudiaron los posibles efectos de un ligando **SRIF** sobre la secreción de **VEGF** y la proliferación celular en cultivos primarios de adenomas no funcionantes humanos. **SRIF** y pasireotida bloquearon la secreción de **VEGF** inducida por forskolina. Los datos demostraron que la pasireotida puede inhibir la viabilidad de las células de adenomas no funcionantes al inhibir la secreción de **VEGF** (Zatelli y col., 2007).

Los adenomas hipofisarios exhiben un espectro de biología, con crecimiento variable y comportamientos hormonales. Por lo tanto, brindan la oportunidad de examinar los mecanismos patogénicos que subyacen al proceso neoplásico. Hay alteraciones en la regulación hormonal, estimulación del factor de crecimiento, control del ciclo celular e interacciones entre células y estroma que resultan de mutaciones genéticas o alteraciones epigenéticas de la expresión génica (Asa y Ezat, 2006, 2009).

Los adenomas hipofisarios se clasifican actualmente por características histológicas, inmunocitoquímicas y ultraestructurales que carecen de correlaciones pronósticas inequívocas. Los tumores invasivos y proliferativos tuvieron un mal pronóstico con una probabilidad aumentada de persistencia o progresión tumoral de 25 o 12 veces, respectivamente, en comparación con los tumores no invasivos (Trouillas y col., 2013). Los prolactinomas son los más frecuentes (Colao, 2009).

La hipersecreción desregulada de GH suele ser causada por un somatotropinoma que conduce a acromegalia, con crecimiento desproporcionado del esqueleto, los tejidos y los órganos. Los ligandos del receptor de somatostatina (**SSTR**) inhiben la liberación de GH, controlan el crecimiento tumoral y atenúan la acción periférica de la GH, mientras que los antagonistas del receptor de GH bloquean la acción de la GH y reducen eficazmente los niveles de IGF1 (Melmed, 2009) (**Figs. 15.17-15.19**)

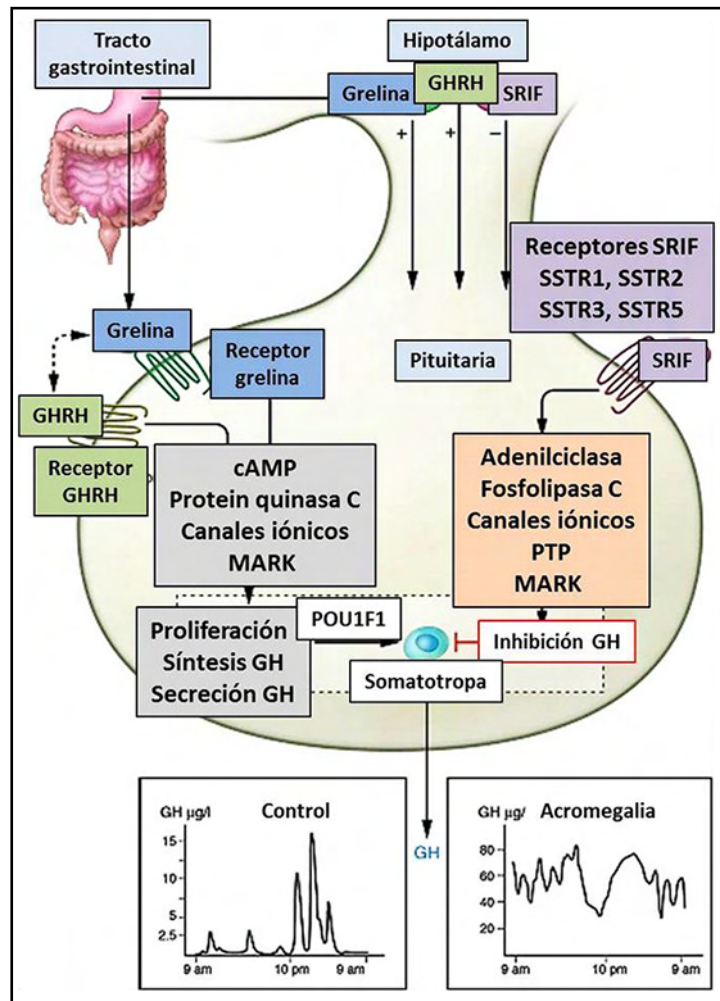


Fig. 15.17 Eje GHRH-GH-IGF1 normal y alterado. Dianas moleculares para la terapia. (Melmed, 2009).

El desarrollo de células somatotropas y la expresión génica están determinados por el factor de transcripción **POU1F1**. La secreción neta de GH está determinada por la integración de señales hipotalámicas, nutricionales, hormonales e intrapituitarias. La síntesis y secreción de GH son inducidas por **GHRH** hipotalámica y **grelina** derivada del intestino. La GHRH también puede actuar como coagonista del receptor de grelina. El **SRIF** hipotalámico suprime la secreción de GH principalmente mediante la unión de alta afinidad a los subtipos de receptores **SSTR 2** y **SSTR 5** expresados en las somatotropas. Señal de ligandos SSTR (SRL) a través de **SSTR 2** y **SSTR 5** para controlar la hipersecreción de GH y reducir la masa tumoral. Los patrones de secreción de GH en un sujeto normal y en acromegalia se representan en los recuadros que muestran ráfagas secretoras (durante la noche) y depresiones diurnas.

La función más importante que ejerce la SST a nivel hipofisario es la inhibición de la secreción hormonal por bloqueo de la exocitosis de los gránulos de secreción y a través de sus receptores. La liberación de ACTH por las corticotropas solo es sensible al **SRIH** en ausencia de la regulación de retroalimentación periférica fisiológica por parte de los glucocorticoides (Lamberts y col., 1989). Los receptores SS (**SST**) tienen un rol inhibitor predominante en la regulación de la secreción de la GH, aunque la secreción de otras hormonas pituitarias: PRL, TSH y ACTH está regulada por SS también. Los receptores de dopamina (**D2**), tienen un papel regulador importante en el control de la secreción de PRL. Los efectos inhibitorios de **SS** y **DA** pueden estar influenciados por mecanismos de retroalimentación fisiológica, que en parte también implican la modulación de la expresión de D2 (Luque y col., 2008, Hofland y col., 2010).

Se demostró que el subtipo 5 del receptor de la somatostatina (**SST-5**) y el subtipo 2 del receptor de la dopamina (**D2**) se expresan con frecuencia en los *corticotropinomas*. La terapia dirigida a la hipófisis con pasireotida y cabergolina, dirigida a dichos receptores tiene éxito en un 25-30% de los pacientes (Feelders y Hofland, 2013). Los tirotropinomas son los más infrecuentes (2%) y también se administra análogos de somatostatina, como octreotida y lanreotida (Beck-Peccoz y col., 2009), mientras que las hiperplasias procedentes de células gonadotropas suelen originar adenomas no funcionantes. El tratamiento con análogos de la somatostatina (**SSA**) y agonistas de la dopamina (**DA**) indujo algunos efectos beneficiosos sobre los defectos del campo visual y también fue seguido por la reducción del tumor (Colao y col., 2008). En los gonadotropinomas se hace tratamiento médico con análogos de la somatostatina, agonistas de la dopamina (Chaidarun y col., 2002).

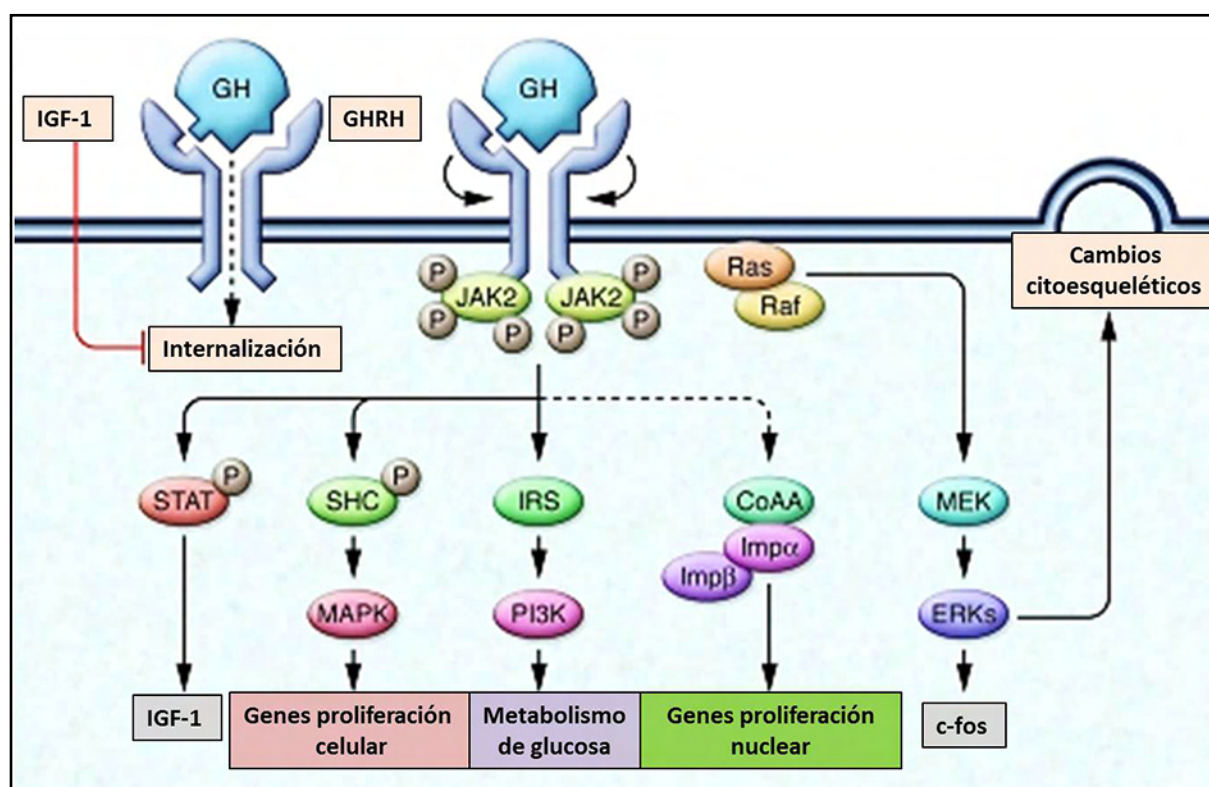


Fig. 15.18 Acción de la GH (Melmed, 2009).

La GH se une al dímero de **GHRH**, que sufre una rotación interna, lo que da como resultado la fosforilación (P) de **JAK2** y la subsiguiente transducción de señales. La señalización de GH está mediada por la fosforilación de **JAK2** de las moléculas de señalización representadas o por la señalización independiente de **JAK2**, incluidas las vías **Src/ERK** (S42). La unión del ligando a un dímero de **GHRH** preformado da como resultado una rotación interna y cascadas de fosforilación subsiguientes. Los objetivos de GH incluyen **IGF-I**, **c-fos**, genes de proliferación celular, metabolismo de la glucosa y proteínas citoesqueléticas. La internalización y translocación de **GHRH** (líneas de puntos) inducen genes de proproliferación nuclear a través de la señalización del coactivador de importina α/β (**Impα/Impβ**) (**CoAA**). **IGF-I** también puede bloquear la internalización de **GHRH**, actuando en un circuito de retroalimentación. El antagonista de **GHRH**, *pegvisomant*, bloquea su señalización. Las SRL también atenúan la unión y señalización de GH.

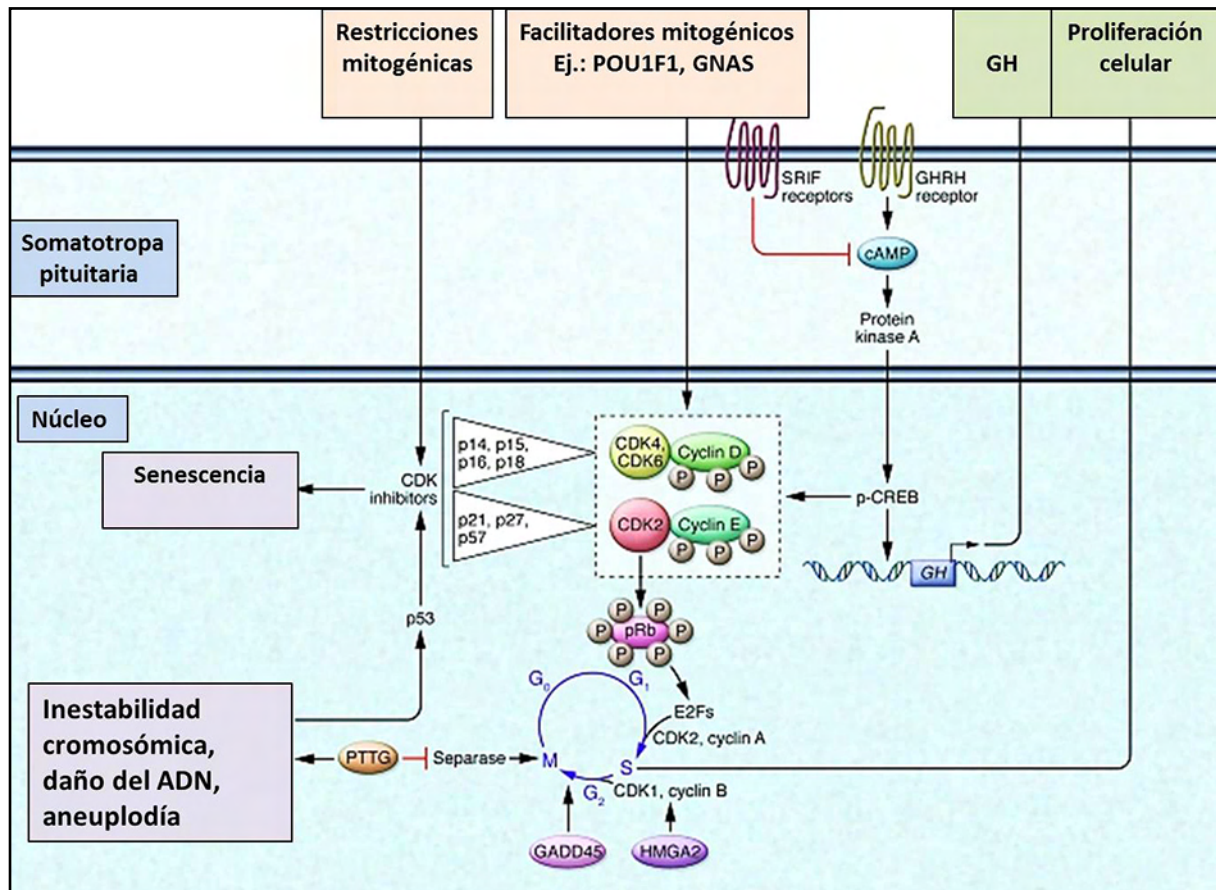


Fig. 15.19 Representación de las vías intracelulares asociadas con la transformación y proliferación somatotropa (Melmed, 2009).

La transcripción de GH y la proliferación de somatotropas son inducidas por **AMPc** que actúa a través de **CREB**. **SRIF** inhibe la actividad **AMPc** y **CREB** para suprimir la secreción de GH. Los **CDK** pituitarias exhiben funciones superpuestas en G1 durante la progresión del ciclo celular. Los factores mitogénicos somatotropos incluyen **POU1F1**, **GHRH** y **GNAS**. Las limitaciones mitogénicas incluyen **SRIF** y genes supresores tumorales incluido **MEN1**. La progresión del ciclo celular a través G/S está mediada por **CDK** que fosforilan **Rb** para liberar proteínas **E2F** que impulsan la síntesis de ADN. En los somatotropinomas la vía **AMPc** puede activarse en forma constitutiva. Además, se demostró que la **HMGA2** y **PTTG**, la sobreexpresión y la pérdida del inhibidor de **CDK** dan como resultado una tumorigénesis experimental. La inestabilidad cromosómica, el daño de ADN y la senescencia, características de los somatotropinomas pueden actuar para limitar la transformación maligna de los mismos.

La somatostatina (**SRIF**) ejerce sus diversos efectos biológicos a través de una familia de receptores de membrana. Además de inhibir la secreción de GH, tiene efectos antiproliferativos y se ha utilizado clínicamente en el tratamiento de tumores hipofisarios. La expresión del receptor **SRIF** (**SSTR**) se ha identificado en los adenomas hipofisarios. Se comunicó: 1. Los adenomas hipofisarios humanos y la hipófisis normal expresan múltiples transcripciones del gen **SSTR**; 2. El ARNm de **SSTR5** se expresa en tejido neoplásico y pituitario normal y 3. El ARNm de **SSTR2/5/1** se expresa en somatotropinomas (Miller y col., 1995; Panetta y Patel, 1995).

El hecho de que **D1**, **D4** y **D5** también se expresen en muchos adenomas sugiere que estos receptores también podrían desempeñar un rol en el impacto terapéutico de las terapias médicas posquirúrgicas en pacientes con adenomas no funcionantes y acromegalia. Se halló que la respuesta *in vivo* a octreótido-LAR se asoció negativamente con **D1** y positivamente con **D5** (Neto y col., 2009). Los **corticotropinomas** expresan múltiples subtipos de **SSTR**. **SOM230** suprimió la proliferación celular y la secreción de ACTH en cultivos primarios. Estos resultados *in vitro* apoyan la hipótesis de que puede tener un papel en la terapia médica de los corticotropinomas (Batista y col., 2006). Se observó la expresión de ARNm del receptor **SSTR5** en pituitaria y cerebelo (Thoss y col., 1996). El **SSTR5** se expresa en tumores derivados de mammosomatotropas, lo que sugiere que este subtipo de receptor puede ser

un determinante importante de la secreción de GH en la acromegalia (Greenman y Melmed, 1994). Se comunicó expresión de ARNm de GnRH-R tanto en adenomas no funcionantes como en somatotropinomas y no se asoció con una población de subtipos de **SSTR** en particular. La distribución de **SSTR** no es diferente entre dichos tipos de adenomas y la gammagrafía del receptor de somatostatina revela una mayor captación en los somatotropinomas que no está relacionada con la distribución del **SSTR** ni con el volumen del tumor (Nielsen y col., 2001).

La somatostatina (**SRIH**) regula la secreción de ACTH hipofisaria al interactuar con una familia de receptores de membrana homólogos acoplados a proteína G. Se estudiaron los subtipos de receptores **SRIH (SST1-5)** que controlan la liberación de ACTH. Estos resultados proporcionan la evidencia de que dichos receptores inhiben la acumulación de **cAMP** y regulan la secreción de ACTH en el modelo celular AtT-20 del corticotropas de roedor (Strowski y col., 2002).

La secreción de GH por las somatotropas hipofisarias es estimulada por **GHRH** y grelina e inhibida por la somatostatina a través de la activación de receptores específicos (**GHRH-R**), receptor de secretagogo de GH (**GHS-R**) y receptores de somatostatina (**SST1-5**). Sin embargo, la somatostatina en dosis bajas, también puede estimular la liberación de GH. **GHRH/grelina** disminuyó la expresión de sus respectivos receptores. Ambos péptidos aumentaron **SST1**, solo **GHRH** disminuyó la expresión de **SST5**, mientras que la expresión de **SST2** permaneció sin cambios. Por el contrario, la somatostatina en dosis altas no alteró la liberación de GH pero aumentó la expresión de **SST1**, **SST2** y **SST5**, mientras que la expresión de **GHRH-R** y **GHS-R** no se vio afectada. La somatostatina en dosis bajas aumentó la liberación de GH y el ARNm de **SST1** pero disminuyó la expresión de **SST5** y **GHRH-R** (Córdoba-Chacón y col., 2012).

La expresión selectiva de los receptores **SST5** en los corticotropinomas y la inhibición preferencial de la liberación de ACTH por las corticotropas sugieren que el **SOM230** puede tener potencial rol en el tratamiento de pacientes con enfermedad de Cushing dependiente de la hipófisis (Hofland y col., 2005). **SST5** y especialmente **D2** están altamente expresados en la mayoría de los corticotropinomas humanos, siendo su coexpresión un fenómeno común. Estos hallazgos apoyan los estudios actuales con agentes dirigidos a **SST5** y **D2** en pacientes con EC y destacan el fundamento detrás de la terapia de su combinación (Bruin y col., 2009). Se sugiere que **SSTR1** participa en la modulación de los niveles basales de GH en cultivos de células pituitarias primarias y, junto con **SSTR2**, puede controlar la secreción de GH en el cuerpo (Kreienkamp y col., 1999). Se investigaron los efectos de **SRIF** y un agonista selectivo de **SSTR1**, **BIM-23926**, sobre la secreción de GH y PRL. Los resultados demostraron que la activación selectiva de **SSTR1** inhibe la secreción hormonal y la viabilidad celular en somatotropinomas y prolactinomas. Se sugiere que los análogos de **SRIF** con afinidad por **SSTR1** pueden ser útiles para controlar la hipersecreción hormonal y reducir el crecimiento neoplásico de los adenomas hipofisarios (Zatelli y col., 2003).

La regulación **SRIF** de GH y TSH en células pituitarias fetales humanas primarias está mediada tanto por **SSTR2** como por **SSTR5**. Por el contrario, la supresión de PRL está mediada por **SSTR2** (Shimon y col., 1997a, 1997b). En resultados previos se demostró la existencia de dos subpoblaciones de somatotropas de porcinos de baja (LD) y alta densidad (HD) que exhiben diferencias en la ultraestructura y responden de manera opuesta a la somatostatina (**SRIF**) *in vitro*. El **SRIF** no es un simple inhibidor de la liberación de GH en cerdos, sino que podría desempeñar un doble papel modulador. La heterogeneidad de la población somatotrópica contribuye en gran medida a su efecto divergente. Los resultados confirmaron el papel dual del **SRIF** en la secreción de GH de somatotropas de porcinos y demostraron que el **SRIF**, en dosis bajas, puede actuar como un verdadero factor de liberación de GH.

La **SST** y la **CORT** ejercen efectos sobre la secreción de hormonas hipofisarias. El tratamiento con dosis bajas de **SST** y **CORT** puede ejercer un efecto paradójico estimulador de la secreción de GH en diversas especies, y que dicho efecto parece estar mediado a través del **SSTR5** (Ramírez y col., 1997, 1998, 2002).

En la **fig. 15.20** se presentan los receptores de somatostatina y dopamina (D2) en los adenomas hipofisarios.

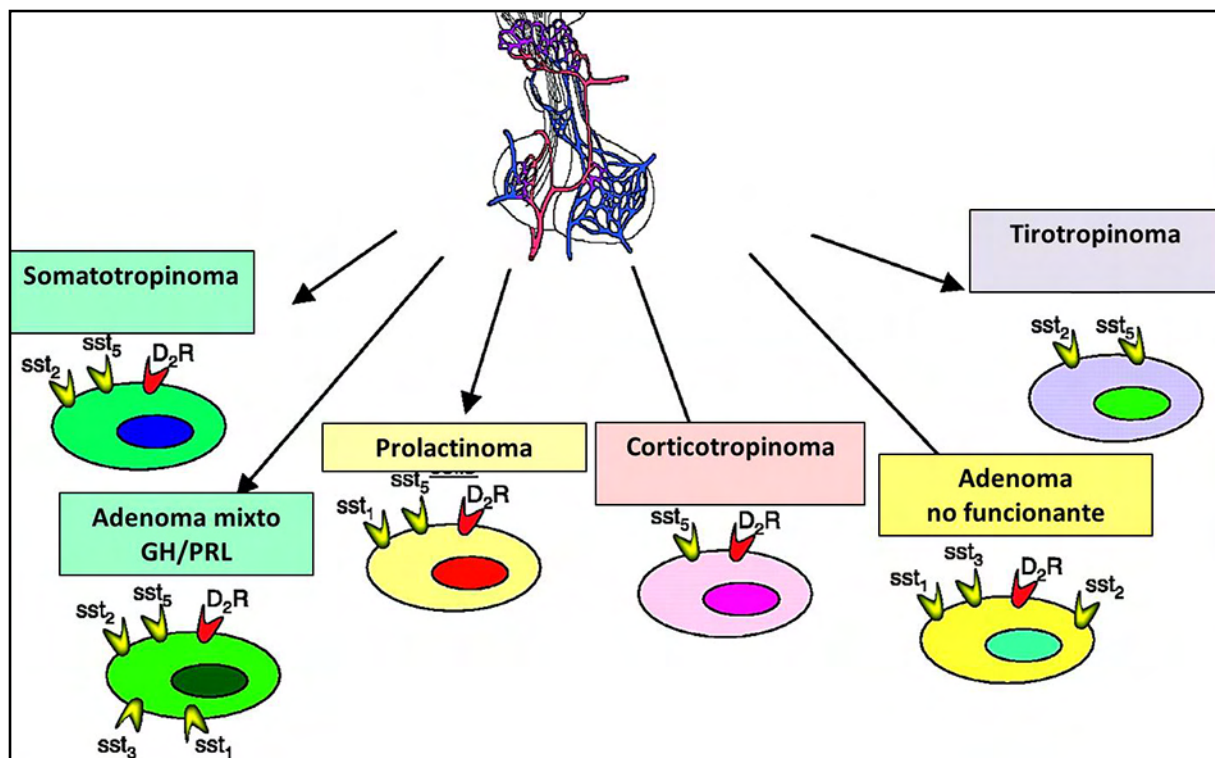


Fig. 15.20 Receptores de somatostatina y D2 en adenomas hipofisarios. (J Mol Endocrinol).

- Somatotropinomas

Los agonistas del receptor de dopamina (DA) y somatostatina (SRIF) inhiben la secreción de GH en los adenomas hipofisarios. Los resultados sugieren que es menos probable que los adenomas que expresan D2 respondan a los análogos de SRIF, en términos de inhibición de la secreción de GH. Por lo tanto, los fármacos que interactúan con D2 podrían controlar mejor la secreción de adenomas hipofisarios (Zatelli y col., 2005).

Hofland y col. (2004) comunicaron: el **SOM230** tiene un perfil amplio de inhibición de la liberación de hormona pituitaria tumoral en el rango nanomolar bajo, probablemente mediada por los receptores **SST2** y **5**. Se sugiere el **SOM230** tiene potencia para aumentar el número de pacientes acromegálicos que pueden ser controlados. En segundo lugar, en comparación con la **OCT**, el **SOM230** es más potente para inhibir la liberación de PRL por las células mixtas de adenoma secretoras de GH/PRL.

Se examinaron los niveles de ARNm de **SSTR** en somatotropinomas y adenomas no funcionantes. Estos hallazgos sugieren que pueden ayudar a predecir la respuesta hormonal a la terapia con octeótrido LAR. Además, parece que **SSTR3** en adenomas no funcionantes puede ser un objetivo potencial para ligandos **SSTR3** como la pasireotida (Taboada y col., 2007, 2008). Los anticuerpos monoclonales de conejo **UMB-4** y **UMB-1** facilitaron la evaluación del estado del receptor de somatostatina de los tumores humanos durante los exámenes histopatológicos (Lupp y col., 2011). El anticuerpo monoclonal de conejo **UMB-5** podría resultar de gran valor en la identificación de tumores que expresan **SST3** durante los exámenes histopatológicos de rutina (Lupp y col., 2012, 2013).

La IHQ de la expresión de **SST** en adenomas pituitarios concuerda con la mayoría de los hallazgos moleculares. El hecho de que la expresión de **SST-2A** sea predominante sugiere que los análogos de somatostatina octapéptidos farmacéuticos pueden actuar a través de este receptor, mientras que el papel de **SST-2B** puede ser meramente sinérgico (Thodou y col., 2006). El perfil de expresión de los **SSTR** en estos tumores es similar al observado en hipófisis normales, posiblemente debido a que las células somatotropas constituyen la población mayoritaria en la hipófisis (Yeung y col., 2006). Sin embargo, aunque el patrón de expresión de **SSTR** más expresado sea muy similar entre hipófisis normales

y somatotropinomas, sus niveles cuantitativos no lo son, puesto que se observa un aumento significativo en los de expresión del receptor **SSTR2** y una disminución en los niveles del receptor **SSTR1** en somatotropinomas con respecto a las hipófisis normales, mientras que no se observan diferencias significativas en la expresión del receptor **SSTR5**. (Neto y col., 2009). El tratamiento con octreótido y lanreótido reduce o normaliza las concentraciones de GH/IGF-I y reduce el tamaño tumoral en pacientes con acromegalia (Melmed, 2009).

La pasireotida LAR demostró una eficacia superior sobre octreotida LAR y es una nueva opción de tratamiento viable para la acromegalia (Colao y col., 2014). Los agonistas de **SST2/5** y **SRIF/DA** inhiben la secreción de GH, pero no suprimen la transcripción del gen de GH (Gruszka y col., 2012). **SST2A IRS** con el anticuerpo anti-SST2A UMB-1 representa una herramienta válida para identificar pacientes acromegálicos que probablemente respondan a la terapia adyuvante con los análogos de somatostatina actualmente disponibles (Gatto y col., 2013). Se comunicó un potencial rol inhibitorio de la variante truncada de somatostatina receptor 5, **SSTMD4**, en adenomas pituitarios de pobre respuesta a los análogos de somatostatina (Durán-Prado y col., 2010).

Los 5 ARNm del receptor de somatostatina se expresan con patrones de distribución distintos aunque superpuestos en el SNC y en los tejidos periféricos. Todos los tipos de receptores se expresan en la hipófisis anterior y el hipotálamo. La expresión del receptor de somatostatina se regula de una manera específica de tejido y tipo, lo que agrega mayor complejidad a la acción del péptido multifacético somatostatina (Berelowitz y col., 1995).

La somatostatina (**SRIF**) se considera como un inhibidor de la liberación de GH en roedores y humanos. Se demostró que la expresión de los receptores **SRIF** de cerdo se encuentra bajo una compleja regulación selectiva. Los resultados indicaron claramente que GHRH y grelina regulan los niveles de ARNm de **SST5** mediante una vía de señalización independiente de **cAMP** (Luque y col., 2004). Se halló una modificación *in vitro* directa de las somatotropas de ovinos por GHRH y GHRP-2 que resulta en una expresión alterada de los genes **GHRH-R**, **GHS-R**, **Pit-1**, **sst-1**, **sst-2** y **GH**. Esto puede ser la base de la acción reguladora de GHRH y GHRP-2 sobre la secreción de GH (Yan y col., 2004)

- Prolactinomas

Los prolactinomas expresan receptores **SSTR1**, **SSTR5** y **SSTR2**. Aunque los **SSTR** se expresan en prolactinomas, los ligandos somatostatinérgicos analizados no parecen ser muy eficaces para suprimir la PRL. El receptor **D2** sigue siendo el objetivo principal para el tratamiento eficaz de los prolactinomas (Fusco y col., 2008). **SST2** se sobreexpresó con éxito en prolactinomas. Dado que los prolactinomas no responden al agonista de la dopamina (DA) en el 10-20% de los casos, se planteó la hipótesis de que la sobreexpresión del receptor de subtipo 2 de la somatostatina (**SST2**) en los prolactinomas resistentes a DA puede mejorar la supresión de la PRL mediante el uso de un agonista quimérico (dopastatina) que se une simultáneamente a **SST2** y al receptor **D2**. **SST2** se sobreexpresó con éxito en prolactinomas. Sin embargo, **BIM-23A760** no pudo mejorar la supresión de PRL, lo que subraya una contribución dopaminérgica predominante en su acción (Cuny y col., 2012).

Los prolactinomas representan aproximadamente el 40% de todos los adenomas hipofisarios y son una causa importante de hipogonadismo e infertilidad. El objetivo final del tratamiento de los prolactinomas es la restauración o el logro del eugonadismo mediante la normalización de la hiperprolactinemia y el control de la masa tumoral. Se comunicó un análisis crítico de la eficacia y seguridad de los diversos modos de terapia disponibles para el tratamiento de pacientes con prolactinomas (Gillam y col., 2006).

Los prolactinomas en los hombres pueden dar macroadenomas voluminosos que invaden las estructuras circundantes. La terapia médica con agonistas de la dopamina puede resultar ineficaz por resistencia farmacológica. La expresión y funcionalidad de **SSTR** debe investigarse en estos tumores, ya que una terapia combinada con cabergolina y octreótido puede ser un buen curso de acción terapéutica (Fusco y col., 2011). Existe un estudio que demuestra que el octreótido y el pasireótido inhiben de forma similar la secreción de PRL en adenomas mixtos (GH/PRL) (Hofland y col., 2004).

Los ratones con inactivación del receptor de dopamina (DA) tipo 2 **D2 KO** tienen hiperprolactinemia crónica. Presentan retraso del crecimiento que evidencia una alteración en el eje GH-IGF-I. En **D2 KO**, las lactotropas no muestran gránulos secretores densos sino células degranuladas y menos somatotropas, gonadotropas y tiotropas. Los niveles de prolactina son siempre más altos en las mujeres que en los hombres y, en consecuencia, la hiperplasia hipofisaria se observa a los 8 meses solo en las mujeres. Después de los 16 meses de edad, se desarrollan adenomas muy vascularizados, especialmente en mujeres. La expresión de **VEGF-A** aumenta en pituitarias a partir de **D2 KO**. **VEGF-A** se expresa en células estelares del folículo. Debido a que los receptores **D2** se encuentran en las lactotropas y no en las células estelares, se puede inferir que un factor paracrino de las lactotropas actúa sobre las estelares para aumentar la expresión de **VEGF-A** que no induce la proliferación de células pituitarias, aunque potencia la secreción de la PRL. El ratón knockout **D2** representa un modelo animal único para estudiar prolactinomas resistentes a la **DA** (Cristina y col., 2006).

- Corticotropinomas

Diversos estudios indican que el **SSTR5** es el receptor más expresado en los corticotropinomas, mientras que el receptor **SSTR2** se expresa en menor medida. Después de lograr el normocortisolismo inducido por la terapia médica, la regulación a la baja de SST_2 mediada por cortisol en los corticotropinomas parece ser un proceso reversible en el ARNm pero no a nivel de proteínas. La octreotida sigue siendo menos potente que la pasireotida y la cabergolina con respecto a la inhibición *in vitro* de la secreción de ACTH (van der Pas y col., 2013). Se sugirió que los análogos de somatostatina más selectivos para **SSTR5** y **SSTR1 y/o 2** pueden tener el potencial terapéutico para el tratamiento médico del enfermedad de Cushing y corticotropinoma silencioso, respectivamente, mientras que la aplicación clínica de agonistas de dopamina selectivos para **D2** es muy limitada (Tateno y col., 2009). Existe falta de eficacia del tratamiento con octreótido y lanreótido en pacientes con enfermedad de Cushing (Hofland, 2008). La pasireotida produjo una disminución de los niveles de los niveles de cortisol libre en orina en el 76% de los pacientes con enfermedad de Cushing durante el período de tratamiento de 15 d, con efectos directos sobre la liberación de ACTH. Estos resultados sugieren que la pasireotida es prometedora como tratamiento médico eficaz para este trastorno (Boscaro y col., 2009). La pasireotida sola o con cabergolina y ketoconazol fue estudiada por Feelders y col., 2010). Se comunicó una disminución significativa de los niveles de cortisol en pacientes con enfermedad de Cushing que recibieron pasireotida respaldando su uso potencial como tratamiento dirigido para los corticotropinomas secretores (Colao y col., 2012). Los estudios de unión a ligandos han demostrado que los glucocorticoides regulan negativamente la concentración del receptor de somatostatina **SST** en varias células diana endocrinas y líneas celulares, incluidas las células GH4C1 (Xu y col., 1995). En una serie de corticotropinomas se halló expresión de ARNm predominante del subtipo 5 del receptor de somatostatina **SST5** (van der Hoek y col., 2005).

- Adenomas no funcionantes

Los adenomas no funcionantes presentan una expresión predominante de los receptores **SSTR3** y **SSTR2**, mientras que la expresión del receptor **SSTR5** suele ser nula o muy baja. Florio y col. (2008) comunicaron la eficacia de la molécula dopamina-somatostatina (BIM-23A760) en el control del crecimiento celular en cultivos de adenomas pituitarios no funcionantes. Algunos estudios demostraron que el tratamiento farmacológico de adenomas no funcionantes con análogos de **SST** podría mejorar los síntomas asociados al crecimiento del tamaño tumoral, pero otros estudios no han obtenido los mismos resultados y, por tanto, actualmente no se dispone de resultados totalmente concluyentes.

El agonista selectivo de **SSTR1** inhibe la actividad secretora y la viabilidad celular, el agonista selectivo de **SSTR2** inhibe la secreción pero no la viabilidad celular y el agonista selectivo de **SSTR5** no influye en la secreción pero promueve la viabilidad celular. Estos datos explicarían la falta de efectos inhibidores de los análogos de **SRIF** utilizados actualmente y sugieren que los fármacos que actúan de forma potente y preferencial sobre **SSTR1** podrían ser útiles para el tratamiento médico de los adenomas no funcionantes (Zatelli y col., 2004).

- Tirotropinomas

Los receptores más frecuentes en los tirotropinomas son el **SSTR2/3/5**. Según Yoshira y col. (2007) la expresión de **SSTR5** en tirotropinomas puede ser un marcador útil para predecir el resultado de la terapia. Los análogos de preferencia de **SST2** clínicamente disponibles, octreótido y lanreótido, inducen la normalización de los niveles hormonales en aproximadamente el 90% de los pacientes y la reducción del tumor en el 45%. Una relación **SST5/SST2** alta podría predecir un resultado positivo para el tratamiento a largo plazo con análogos de somatostatina en tirotropinomas. Además, el direccionamiento combinado de somatostatina y receptor **D2** podría considerarse una herramienta potencial para mejorar la tasa de respuesta en tumores resistentes a octreótido (Gatto y col., 2012). Además, se demostró que octreotida-LAR es eficaz, tanto en pacientes no tratados previamente como en pacientes tratados con cirugía y/o radioterapia hipofisaria (Caron y col., 2001). Luego de un estado hipotiroideo prolongado, la TSH indujo la expresión de los subtipos de receptores específicos de somatostatina con involución del tumor tirotrófico murino (James y col., 1997).

- Gonadotropinomas

Se investigaron los efectos del estradiol y la testosterona sobre la expresión de los receptores de somatostatina **SST1** y **SST5** en el prosencéfalo y la pituitaria de peces dorados. El estradiol aumentó la expresión de **SST1** de una manera dependiente de la dosis y del tiempo. Además, el estradiol también aumentó la expresión hipofisaria de **SST5**. La testosterona no tuvo efectos sobre la expresión de estos subtipos de receptores (Canosa y col., 2003). Se probó si la sensibilidad de PRL inducida por 17 beta-estradiol (E2) a la somatostatina-14 (**SRIF**) implica una regulación positiva selectiva de subtipos de receptores de somatostatina (**SST**) en cultivos primarios de células pituitarias de rata hembra. Los resultados indicaron que los receptores **SST2** y **SST3** son los principales receptores de somatostatina expresados en la pituitaria de rata hembra y que ambos están regulados positivamente por estradiol. Sin embargo, la capacidad de las lactotropas para responder a **SRIF** después de la exposición a E2 parece depender más de la regulación positiva inducida por E2 del subtipo de receptor **SST2** que del subtipo de receptor **SST3** (Djordjijevic y col., 1998). Los estudios de unión a receptores revelaron que en pituitarias de ratas ovariectomizadas y ratas machos, expresaron tipos de receptores heterogéneos, **SST5** y **SST2**, mientras que los receptores de pituitarias de ratas tratadas con E2 exhibieron principalmente características del subtipo **SST2** (Kimura y col., 1998). Se demostró la naturaleza del gen **SST2** humano y se identificaron sus regiones flanqueantes 5' y 3'. Además, se demostró la actividad específica del promotor y la regulación por diversas hormonas y 17 β-estradiol. Los glucocorticoides conducen a una inhibición significativa de la actividad del promotor **SST2** (Petersenn y col., 1999; Córdoba-Chacón y col., 2011). La expresión de **SMAD4** en células BxPC-3 restablece tanto la expresión de **SST2** endógena como la inhibición del crecimiento celular mediada por somatostatina (Puente y col., 2001). En la fig. 16.20 se ve la distribución de *receptores de somatostatina y dopamina D2* en los diferentes tipos de adenomas hipofisarios. El **D2** es el receptor más representado en los tumores hipofisarios y se asocia preferentemente con **SST2** y **SST5** en somatotropinomas, con **SST1** y **SST5** en prolactinomas, con **SST3** y **SST2** en adenomas no funcionantes y con **SST5** en corticotropinomas. En los adenomas mixtos y plurihormonales se observa un patrón muy heterogéneo.

Conclusiones

Los estudios presentados demuestran el avance logrado en el conocimiento de las propiedades funcionales y rutas de señalización asociadas a los **SSTR** en hipófisis normales y adenomas hipofisarios. Queda mucho por investigar sobre los complejos mecanismos celulares y moleculares asociados al sistema de los receptores **SST** y **CORT** a nivel hipofisario y en relación con la diferenciación, progresión y respuesta farmacológica de los tumores pituitarios. Los hallazgos permitirán mejorar las terapias personalizadas y hacerlas más adecuadas y eficaces.

Referencias

- Acunzo J et al. Somatostatin receptor sst2 decreases cell viability and hormonal hypersecretion and reverses octreotide resistance of human pituitary adenomas. *Cancer Res* 68:10163-10170, 2008.
- Asa SL, Ezzat S. The pathogenesis of pituitary tumors. *Annu Rev Pathol* 4:97-126, 2009.
- Bai M. Dimerization of G-protein-coupled receptors: roles in signal transduction. *Cell Signal* 16:175-186, 2004.
- Baragli A et al. Hetero oligomerization of human dopamine receptor 2 and somatostatin receptor 2 co-immunoprecipitation and fluorescence resonance energy transfer analysis. *Cell Signal* 19:2304-2316, 2007.
- Batista DL et al. The effects of SOM230 on cell proliferation and adrenocorticotropin secretion in human corticotroph pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4482-4488, 2006.
- Beck-Peccoz P et al. Pituitary tumours: TSH-secreting adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:597-606, 2009.
- Ben-Shlomo A et al. Constitutive somatostatin receptor activity determines tonic pituitary cell response. *Mol Endocrinol* 23:337-348, 2009.
- Ben-Shlomo A et al. Constitutive somatostatin receptor subtype 2 activity attenuates GH synthesis. *Endocrinology* 154:2399-2409, 2013.
- Ben-Shlomo A et al. Selective regulation of somatostatin receptor subtype signaling: evidence for constitutive receptor activation. *Mol Endocrinol* 21:2565-2578, 2007.
- Ben-Shlomo A, Melmed S. Pituitary somatostatin receptor signaling. *Trends Endocrinol Metab* 21:123-133, 2010.
- Berelowitz M, Xu Y, Song J, Bruno JF. Regulation of somatostatin receptor mRNA expression. *Ciba Found Symp* 190:122-126, 1995.
- Boscaro M et al. Treatment of pituitary-dependent Cushing's disease with the multireceptor ligand somatostatin analog pasireotide (SOM230): a multicenter, phase II trial. *J Clin Endocrinol Metab* 94:115-122, 2009.
- Brazeau P et al. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 79:77-79, 1973.
- Bruno JF et al. Pituitary and hypothalamic somatostatin receptor subtype messenger ribonucleic acid expression in the food-deprived and diabetic rat. *Endocrinology* 135:1787-1792, 1994.
- Budry L et al. Related pituitary cell lineages develop into interdigitated 3D cell networks. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:12515-12520, 2011.
- Bulenger S, Marullo S, Bouvier M. Emerging role of homo- and heterodimerization in G-protein-coupled receptor biosynthesis and maturation. *Trends Pharmacol Sci* 26:131-137, 2005.
- Cakir M et al. Somatostatin receptor biology in neuroendocrine and pituitary tumours: part 1-molecular pathways. *J Cell Mol Med* 14:2570--2584, 2010.
- Canosa LF, Lin X, Peter RE. Effects of sex steroid hormones on the expression of somatostatin receptors sst1 and sst5 in gold fish pituitary and forebrain. *Neuroendocrinology* 78:81-89, 2003.
- Cardenas R et al. Estradiol reduces pituitary responsiveness to somatostatin (SRIF-14) and down-regulates the expression of somatostatin sst2 receptors in female goldfish pituitary. *Gen Comp Endocrinol* 132:119-124, 2003.
- Caron P et al. Efficacy of the long-acting octreotide formulation (octreotide-LAR) in patients with thyrotropin-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 86:2849-2853, 2001.
- Castaño JP et al. New insights in the mechanism by which SRIF influences GH secretion. *J Endocrinol Invest* 28(5Suppl):10-13, 2005.
- Cervia D, Bagnoli P. An update on somatostatin receptor signaling in native systems and new insights on their pathophysiology. *Pharmacol Ther* 116:322-341, 2007.

- Chaidarun SS, Klibanski A. Gonadotropinomas. *Semin Reprod Med* 20:339-348, 2002.
- Colao A et al. A 12-month phase 3 study of pasireotide in Cushing's disease. *N Engl J Med* 366:914-924, 2012.
- Colao A et al. Medical therapy for clinically non-functioning pituitary adenomas. *Endocr Relat Cancer* 15:905-915, 2008
- Colao A et al. Pasireotide versus octreotide in acromegaly: a head-to-head superiority study. *J Clin Endocrinol Metab* 99:791-799, 2014.
- Colao A. Pituitary tumours: the prolactinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:575-596, 2009.
- Córdoba-Chacón J et al. Cortistatin is not a somatostatin analogue but stimulates prolactin release and inhibits GH and ACTH in a gender-dependent fashion: potential role of ghrelin. *Endocrinology* 152:4800-4812, 2011.
- Córdoba-Chacón J et al. Homologous and heterologous in vitro regulation of pituitary receptors for somatostatin, growth hormone (GH)-releasing hormone, and ghrelin in a nonhuman primate (*Papio anubis*). *Endocrinology* 153:264-272, 2012.
- Córdoba-Chacón J et al. Identification and characterization of new functional truncated variants of somatostatin receptor subtype 5 in rodents. *Cell Mol Life Sci* 67:1147-1163, 2010.
- Córdoba-Chacón J et al. Somatostatin and its receptors contribute in a tissue-specific manner to the sex-dependent metabolic (fed/fasting) control of growth hormone axis in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300:E46-54, 2011.
- Córdoba-Chacón J et al. Somatostatin dramatically stimulates growth hormone release from primate somatotrophs acting at low doses via somatostatin receptor 5 and cyclic AMP 24:453-463, 2012.
- Córdoba-Chacón J et al. Truncated somatostatin receptors as new players in somatostatin-cortistatin pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci* 1220:6-15, 2011.
- Cristina C et al. Dopaminérgico D2 receptor knockout mouse: an animal model of prolactinoma. *Front Horm Res* 35: 50-63, 2006.
- Csaba Z, Dournaud P. Cellular biology of somatostatin receptors. *Neuropeptides* 35:1-23, 2001.
- Csaba Z, Peineau S, Dournaud P. Molecular mechanisms of somatostatin receptor trafficking. *J Mol Endocrinol* 48:R1-12, 2012.
- Cuny T et al. Somatostatin receptor sst2 gene transfer in human prolactinomas in vitro: impact on sensitivity to dopamine, somatostatin and dopastatin, in the control of prolactin secretion. *Mol Cell Endocrinol* 355:106-113, 2012.
- Day R et al. Expression of mRNA for somatostatin receptor (sstr) types 2 and 5 in individual rat pituitary cells. A double labeling in situ hybridization analysis. *Endocrinology* 136:5232-5235, 1995.
- de Bruin C et al. Coexpression of dopamine and somatostatin receptor subtypes in corticotroph adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1118-1124, 2009.
- de Lecea L et al. A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. *Nature* 381:242-245, 1996.
- De Martino MC, Hofland LJ, Lamberts SW. Somatostatin and somatostatin receptors: from basic concepts to clinical applications. *Prog Brain Res* 182:255-280, 2010.
- Djordjijevic D et al. Effect of 17beta-estradiol on somatostatin receptor expression and inhibitory effects on growth hormone and prolactin release in rat pituitary cell cultures. *Endocrinology* 139:2272-2277, 1998.
- Durán-Prado M et al. A potential inhibitory role for the new truncated variant of somatostatin receptor 5, sst5TMD4, in pituitary adenomas poorly responsive to somatostatin analogs. *J Clin Endocrinol Metab* 95:2497-2502, 2010.
- Durán-Prado M et al. Dimerization of G protein-coupled receptors: new avenues for somatostatin receptor signalling, control and functioning. *Mol Cell Endocrinol* 286:63-68, 2008.
- Durán-Prado M et al. Identification and characterization of two novel truncated but functional isoforms of the somatostatin receptor subtype 5 differentially present in pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 94:2634-2643, 2009.
- Durán-Prado M et al. Porcine somatostatin receptor2 displays typical pharmacological sst2 features but unique dynamics of homodimerization and internalization. *Endocrinology* 148:411-421, 2007.

- Durán-Prado M et al. The new truncated somatostatin receptor variant sst5TMD4 is associated to poor prognosis in breast cancer and increases malignancy in MCF-7 cells. *Oncogene* 31:2049-2061, 2012.
- Durán-Prado M et al. Truncated variants of pig somatostatin receptor subtype 5 (sst5) act as dominant negative modulators for sst2-mediated signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303:E1325-E1334, 2012.
- Eglen RM. Emerging concepts in GPCR function-the influence of cell phenotype on GPCR pharmacology. *Proc West Pharmacol Soc* 48:31-34, 2005.
- Eigler T, Ben-Shlomo A. Sistema de somatostatina: mecanismos moleculares que regulan las hormonas de la hipófisis anterior. *J Mol Endocrinol* 53(1):R1-19, 2014.
- Enjalbert U. Múltiples mecanismos de transducción de receptores de dopamina, somatostatina y angiotensina II en células de la hipófisis anterior. *Horm Res* 31(1-2):6-12, 1989.
- Epelbaum J et al. Receptores de somatostatina en somatotropas, tirotropas, y lactotropas hipofisarias: evidencia farmacológica de un acoplamiento débil con la adenilato ciclasa. *Endocrinology* 121(6):2177-85, 1987.
- Ezzat S, Asa SL. Mechanisms of disease: The pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2:220-230, 2006.
- Feelders RA et al. Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in Cushing's disease. *N Engl J Med* 362:1846-1848, 2010.
- Feelders RA, Hofland LJ. Medical treatment of Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 98:425-438, 2013.
- Ferrante E et al. Octreotide promotes apoptosis in human somatotroph tumorcells by activating somatostatin receptor type 2. *Endocr Relat Cancer* 13:955-962, 2006.
- Florio T et al. Efficacy of a dopamine-somatostatin chimeric molecule, BIM-23A760, in the control of cell growth from primary cultures of human non-functioning pituitary adenomas: a multi-center study. *Endocr Relat Cancer* 15:583-596, 2008.
- Florio T. Somatostatin/somatostatin receptor signalling: phosphotyrosine phosphatases. *Mol Cell Endocrinol* 286:40-48, 2008.
- Fusco A et al. Efficacy of the combined cabergoline and octreotide treatment in a case of a dopamine-agonist resistant macroprolactinoma. *Pituitary* 14:351-357, 2011.
- Fusco A et al. Somatostatinergic ligands in dopamine-sensitive and resistant prolactinomas. *Eur J Endocrinol* 158:595-603, 2008.
- Gadelha MR et al. Novel pathway for somatostatin analogs in patients with acromegaly. *Trends Endocrinol Metab* 24:238-246, 2013.
- Gahete MD et al. Are somatostatin and cortistatin two siblings in regulating endocrine secretions? In vitro work ahead. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 286:128-134.
- Gahete MD et al. Understanding the multifactorial control of growth hormone release by somatotropes: lessons from comparative endocrinology. *Ann N Y Acad Sci* 1163:137-153, 2009.
- Gatto F et al. Balance between somatostatin and D2 receptor expression drives TSH-secreting adenoma response to somatostatin analogues and dopa statins. *Clin Endocrinol (Oxf)* 76:407-414, 2012.
- Gatto F et al. Immunoreactivity score using an anti-sst2A receptor monoclonal antibody strongly predicts the biochemical response to adjuvant treatment with somatostatin analogs in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 98:E66-71, 2013.
- Gillam MP et al. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr Rev* 27:485-534, 2006.
- Grant M, Patel RC, Kumar U. The role of subtype-specific ligand binding and the C-tail domain in dimer formation of human somatostatin receptors. *J Biol Chem* 279:38636-38643, 2004a.
- Grant M, Collier B, Kumar U. Agonist-dependent dissociation of human somatostatin receptor 2 dimers: a role in receptor trafficking. *J Biol Chem* 279:36179-36183, 2004b.
- Greenman Y, Melmed S. Expression of three somatostatin receptor subtypes in pituitary adenomas: evidence for preferential SSTR5 expression in the mammo-somatotroph lineage. *J Clin Endocrinol Metab* 79:724-729, 1994.
- Greenman Y, Melmed S. Heterogeneous expression of two somatostatin receptor subtypes in pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 78:398-403, 1994.

- Gruszka A, Culler MD, Melmed S. Somatostatin analogs and chimeric somatostatin-dopamine molecules differentially regulate human growth hormone and prolactin gene expression and secretion in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 362:104-109, 2012.
- Guillermet-Guibert J et al. Fisiología de los receptores de somatostatina. *J Endocrinol Invest* 8 (11 Suppl Internacional):5-9, 2005.
- Hofland LJ et al. Pituitary tumours: the sst/D2 receptors as molecular targets. *Mol Cell Endocrinol* 326:89-98, 2010.
- Hofland LJ et al. The multiligand somatostatin analogue SOM230 inhibits ACTH secretion by cultured human corticotroph adenomas via somatostatin receptor type 5. *Eur J Endocrinol* 152:645-654, 2005.
- Hofland LJ et al. The novel somatostatin analog SOM230 is a potent inhibitor of hormone release by growth hormone-and prolactin-secreting pituitary adenomas in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 89:1577-1585, 2004.
- Hofland LJ, Lamberts SW. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev* 24:28-47, 2003a.
- Hofland LJ. Responsiveness to somatostatin analog treatment and potentials of novel somatostatin analog. *J Endocrinol Invest* 26(8Suppl):8-13, 2003b.
- Hofland LJ. Somatostatin and somatostatin receptors in Cushing's disease. *Mol Cell Endocrinol* 286:199-205, 2008.
- Hofland LJ et al. Rol de los receptores de somatostatina en las células corticotrópicas de la hipófisis normal y tumoral. *Neuroendocrinology* 92 Suppl 1:11-6, 2010.
- Jacobs S, Schulz S. Intracellular trafficking of somatostatin receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2008; 286:58-62, 2008.
- James RA et al. Thyroid hormone-induced expression of specific somatostatin receptor subtypes correlates with involution of the TtT-97 murine thyrotrope tumor. *Endocrinology* 138:719-724, 1997.
- Janson E et al. Nuclear localization of ¹¹¹In after intravenous injection of [¹¹¹In-DTPA-D-Phe¹]-octreotide in patients with neuroendocrine tumors. *J Nucl Med* 41:1514-1518, 2000.
- Kimura N, Tomizawa S, Arai KN. Chronic treatment with estrogen up-regulates expression of sst2 messenger ribonucleic acid (mRNA) but down-regulates expression of sst5 mRNA in rat pituitaries. *Endocrinology* 139:1573-1580, 1998.
- Kreienkamp HJ et al. Somatostatin receptor subtype 1 modulates basal inhibition of growth hormone release in somatotrophs. *FEBS Lett* 462:464-466, 1999.
- Kumar U, Grant M. Somatostatin and somatostatin receptors. *Results Probl Cell Differ* 50:137-184, 2010.
- Lamberts SW et al. Studies on the conditions determining the inhibitory effect of somatostatin on adrenocorticotropin, prolactin and thyrotropin release by cultured rat pituitary cells. *Neuroendocrinology* 50:44-50, 1989.
- Larhammar D et al. Major genomic events and their consequences for vertebrate evolution and endocrinology. *Ann N Y Acad Sci* 1163:201-208, 2009.
- Lupp A et al. Reassessment of sst (5) somatostatin receptor expression in normal and neoplastic human tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-4. *Neuroendocrinology* 94:255-264, 2011.
- Lupp A et al. Reassessment of sst 3 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-5. *Neuroendocrinology* 96:301-310, 2012.
- Lupp A, Nagel F, Schulz S. Reevaluation of sst somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-7. *Regul Pept* 2013; 183C:1-6.
- Luque RM et al. Differential contribution of nitric oxide and cGMP to the stimulatory effects of growth hormone-releasing hormone and low-concentration somatostatin on growth hormone release from somatotrophs. *J Neuroendocrinol* 17:577-582, 2005.
- Luque RM et al. Homologous and heterologous in vitro regulation of pig pituitary somatostatin receptor subtypes, sst1, sst2 and sst5 mRNA. *J Mol Endocrinol* 32:437-448, 2004.
- Luque RM et al. Identification of the somatostatin receptor subtypes (sst) mediating the divergent, stimulatory/inhibitory actions of somatostatin on growth hormone secretion. *Endocrinology* 147:2902-2908, 2006.

- Luque RM, Park S, Kineman RD. Role of endogenous somatostatin in regulating GH output under basal conditions and in response to metabolic extremes. *Mol Cell Endocrinol* 286:155-168, 2008.
- Melmed S. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 119:3189-3202, 2009.
- Miller GM et al. Somatostatin receptor subtype gene expression in pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1386-1392, 1995.
- Milligan G, Smith NJ. Allosteric modulation of heterodimeric G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol Sci* 28:615-620, 2007.
- Milligan G. G protein-coupled receptor dimerization: function and ligand pharmacology. *Mol Pharmacol* 66:1-7.28, 2004.
- Moaeen-ud-Din M, Yang LG. Evolutionary history of the somatostatin and somatostatin receptors. *J Genet* 88:41-53, 2009.
- Moller LN et al. Somatostatin receptors. *Biochim Biophys Acta* 1616:1-84, 2003.
- Neto LV et al. Expression analysis of dopamine receptor subtypes in normal human pituitaries, nonfunctioning pituitary adenomas and somatotropinomas, and the association between dopamine and somatostatin receptors with clinical response to octreotide-LAR in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 94:1931-1937, 2009.
- Nielsen S et al. Expression of somatostatin receptors on human pituitary adenomas in vivo and ex vivo. *J Endocrinol Invest* 24:430-437, 2001.
- Olias G et al. Regulation and function of somatostatin receptors. *J Neurochem* 89:1057-1091, 2004.
- Panetta R, Patel YC. Expression of mRNA for all five human somatostatin receptors (hSSTR1-5) in pituitary tumors. *Life Sci* 56:333-342, 1995.
- Patel RC, Lange DC, Patel YC. Photobleaching fluorescence resonance energy transfer reveals ligand-induced oligomer formation of human somatostatin receptor subtypes. *Methods* 27:340-348, 2002.
- Patel YC. Somatostatin its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 20:157-198, 1999.
- Petersenn S et al. Genomic structure and transcriptional regulation of the human somatostatin receptor type 2. *Mol Cell Endocrinol* 157:75-85, 1999.
- Pfeiffer M et al. Heterodimerization of somatostatin and opioid receptors cross-modulates phosphorylation, internalization, and desensitization. *J Biol Chem* 277:19762-19772, 2002.
- Pfleger KD, Eidne KA. Monitoring the formation of dynamic G-protein-coupled receptor-protein complexes in living cells. *Biochem J* 385:625-637, 2005.
- Prinster SC, Hague C, Hall RA. Heterodimerization of G protein-coupled receptors: specificity and functional significance. *Pharmacol Rev* 57:289-298, 2005.
- Puente E et al. Transcriptional activation of mouse sst2 somatostatin receptor promoter by transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 276 (16): 13461-8, 2001.
- Ramírez JL et al. Somatostatin at low doses stimulates growth hormone release from intact cultures of porcine pituitary cells. *Horm Metab Res* 30:175-177, 1998.
- Ramírez JL et al. Somatostatin plays a dual, stimulatory/inhibitory role in the control of growth hormone secretion by two somatotrope subpopulations from porcine pituitary. *J Neuroendocrinol* 9:841-848, 1997.
- Ramírez JL et al. Somatostatin stimulates GH secretion in two porcine somatotrope subpopulations through a cAMP-dependent pathway. *Endocrinology* 143:889-897, 2002.
- Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev* 24:389-427, 2003.
- Rocheville M et al. Receptors for dopamine and somatostatin: formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity. *Science* 288:154-157, 2000.
- Rocheville M et al. Los subtipos del receptor de la somatostatina se ensamblan como homo y heterodímeros funcionales. *J Biol Chem* 275 (11): 7862-9, 2000.
- Sam S, Frohman LA. Normal physiology of hypothalamic pituitary regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am* 37:1-22, 2008.
- Schonbrunn A, Tashjian Jr H. Characterization of functional receptors for somatostatin in rat pituitary cells in culture. *J Biol Chem* 253:6473-6483, 1978.

- Seifert R, Wenzel-Seifert K. Constitutive activity of G-protein-coupled receptors: cause of disease and common property of wild-type receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 366:381-416, 2002.
- Shimon I et al. Somatostatin receptor (SSTR) subtype-selective analogues differentially suppress in vitro growth hormone and prolactin in human pituitary adenomas. Novel potential therapy for functional pituitary tumors. *J Clin Invest* 100:2386-2392, 1997.
- Shimon I et al. Somatostatin receptor subtype specificity in human fetal pituitary cultures. Differential role of SSTR2 and SSTR5 for growth hormone, thyroid-stimulating hormone, and prolactin regulation. *J Clin Invest* 99:789-798, 1997.
- Shpakov AO. Somatostatin receptors and signaling cascades coupled to them. *Zh Evol Biokhim Fiziol* 48:329-341, 2012.
- Strowski MZ et al. Somatostatin receptor subtypes 2 and 5 inhibit corticotropin-releasing hormone-stimulated adrenocorticotropin secretion from AtT-20 cells. *Neuroendocrinology* 75:339-346, 2002.
- Taboada GF et al. Quantitative analysis of somatostatin receptor subtype (SSTR1-5) gene expression levels in somatotropinomas and non-functioning pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 156:65-74, 2007.
- Taboada GF et al. Quantitative analysis of somatostatin receptor subtypes 1-5 gene expression levels in somatotropinomas and correlation to in vivo hormonal and tumor volume responses to treatment with octreotide LAR. *Eur J Endocrinol* 158:295-303, 2008.
- Tateno T et al. Differential expression of somatostatin and dopamine receptor subtype genes in adrenocorticotropin (ACTH)-secreting pituitary tumors and silent corticotroph adenomas. *Endocr J* 56:579-584, 2009.
- Terrillon S, Bouvier M. Roles of G-protein-coupled receptor dimerization. *EMBO Rep* 5:30-34, 2004.
- Theodoropoulou M et al. Octreotide, a somatostatin analogue, mediates its antiproliferative action in pituitary tumor cells by altering phosphatidylinositol 3-kinase signaling and inducing *Zac1* expression. *Cancer Res* 66:1576-1582, 2006.
- Theodoropoulou M, Stalla GK. Somatostatin receptors: from signaling to clinical practice. *Front Neuroendocrinol* 34:228-252, 2013.
- Thodou E et al. Mapping of somatostatin receptor types in GH or/and PRL producing pituitary adenomas. *J Clin Pathol* 59:274-279, 2006.
- Thoss VS et al. Expression of five somatostatin receptor mRNAs in the human brain and pituitary. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 354:411-419, 1996.
- Tostivint H et al. New insight into the molecular revolution of the somatostatin family. *Mol Cell Endocrinol* 286:5-17, 2008.
- Trouillas J et al. A new prognostic clinic pathological classification of pituitary adenomas: a multicentric case-control study of 410 patients with 8 years post-operative follow-up. *Acta Neuropathol* 126:123-135, 2013.
- van der Hoek J et al. Distinct functional properties of native somatostatin receptor subtype 5 compared with subtype 2 in the regulation of ACTH release by corticotroph tumor cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289:E278-E287, 2005.
- van der Pas R et al. Preoperative normalization of cortisol levels in Cushing's disease after medical treatment: consequences for somatostatin and dopamine receptor subtype expression and in vitro response to somatostatin analogs and dopamine agonists. *J Clin Endocrinol Metab* 98:E1880-E1890, 2013.
- Xu Y, Berelowitz M, Bruno JF. Dexamethasone regulates somatostatin receptor subtype messenger ribonucleic acid expression in rat pituitary GH4C1 cells. *Endocrinology* 136: 5070-5075, 1995.
- Yan M et al. Effect of GHRH and GHRP-2 treatment in vitro on GH secretion and levels of GH, pituitary transcription factor-1, GHRH-receptor, GH-secretagogue-receptor and somatostatin receptor mRNAs in ovine pituitary cells. *Eur J Endocrinol* 150:235-242, 2004.
- Yang SK et al. Somatostatin decreases voltage-gated Ca²⁺ currents in GH3 cells through activation of somatostatin receptor 2. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E1863-1870, 2007a.

- Yang SK, Chen Ch. Participación de los subtipos de receptores de la somatostatina en la modificación del canal iónico de la membrana por la somatostatina en las somatotropas hipofisarios. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34(12):1221-7, 2007b.
- Yang SK et al. La somatostatina aumenta las corrientes de K⁺ dependientes de voltaje en las células GH3 mediante la activación de múltiples receptores de somatostatina. *Endocrinology* 146(11):4975-84, 2005.
- Yeung CM et al. Cells of the anterior pituitary. *Int J Biochem Cell Biol* 38:1441-1449, 2006.
- Yoshihara A et al. Expression of type 5 somatostatin receptor in TSH-secreting pituitary adenomas: a possible marker for predicting long-term response to octreotide therapy. *J Endocr* 54:133-138, 2007.
- Zatelli MC et al. Dopamine receptor subtype 2 and somatostatin receptor subtype 5 expression influences somatostatin analogs effects on human somatotroph pituitary adenomas in vitro. *J Mol Endocrinol* 35:333-341, 2005.
- Zatelli MC et al. Evidence for differential effects of selective somatostatin receptor subtype agonists on alpha-subunit and chromogranin a secretion and on cell viability in human nonfunctioning pituitary adenomas in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5181-5188, 2004.
- Zatelli MC et al. Pasireotide, a multiple somatostatin receptor subtypes ligand, reduces cell viability in non-functioning pituitary adenomas by inhibiting vascular endothelial growth factor secretion. *Endocr Relat Cancer* 14:91-102, 2007.
- Zatelli MC et al. Somatostatin receptor subtype 1 selective activation in human growth hormone (GH)- and prolactin (PRL)-secreting pituitary adenomas: effects on cell viability, GH, and PRL secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2797-2802, 2003.

CAPÍTULO 16

CLÍNICA Y TRATAMIENTO DE LOS ADENOMAS HIPOFISARIOS

16.1 Adenomas hipofisarios: generalidades

Los adenomas hipofisarios representan las neoplasias intracraneanas primarias más comunes, siendo 6.6 a 9.1% de los tumores de cerebro y del SNC, con una incidencia anual de 0.8 a 8 por cada 100.000 personas/año (Surawicz y col., 1999; Nilsson y col., 2000). Son más frecuentes en mujeres (20-45 años) respecto a hombres (35-60 años) (Davis y col., 2001). Los adenomas hipofisarios tienen una prevalencia de 16.7% (Ezzat y col., 2004). Aunque la mayoría de los adenomas son benignos y rara vez se malignizan, se comportan de modo agresivo al ejercer una compresión de masa en sitios muy delicados y se asocian a una secreción hormonal alterada (Ezzat y Asa, 2006).

Los tumores hipofisarios son comunes en la población general y con los nuevos recursos se diagnostican con mayor frecuencia. La mayor parte de los mismos son adenomas benignos, ya que los carcinomas son raros. Datos recientes sugieren que 1 de cada 5 individuos de la población general están afectados por adenomas pituitarios no funcionantes. Esto tiene implicancias diagnósticas y terapéuticas (Mete y Asa, 2012 y 2013). El estudio de las hipófisis en necropsias detectó adenomas en el 20 % de los casos (Kovacs y Horvath, 1986b; Lloyd, 1993; Asa y Ezzat, 1998). La TAC y la RNM incrementaron su prevalencia clínica (Molicht y col., 1997).

En la **fig. 16.1** se observa un adenoma hipofisario con el signo del 8 o del muñeco de nieve.

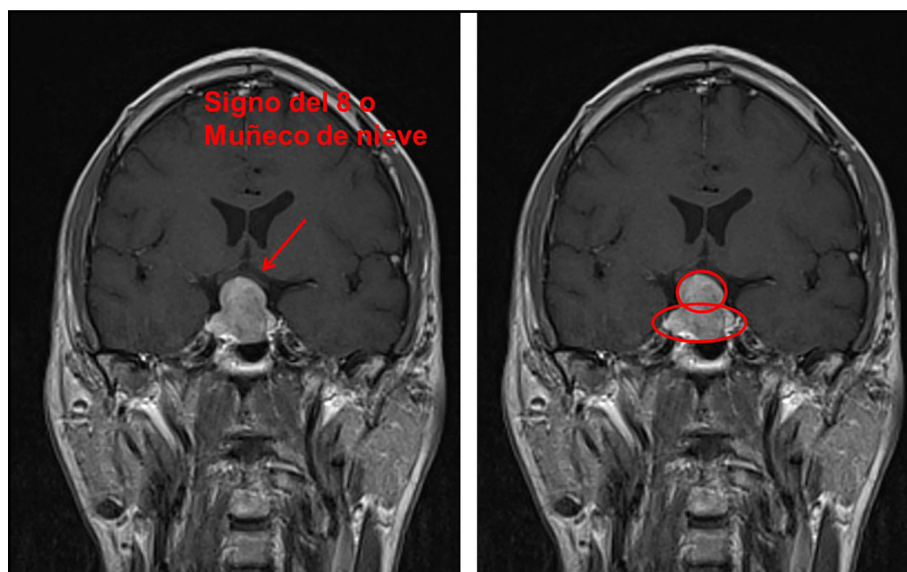


Fig. 16.1 Adenoma hipofisario. Signo del 8 o del muñeco de nieve (neurología.com).

Los adenomas hipofisarios derivan de las células progenitoras o de las células diferenciadas secretoras de hormonas. Se ha documentado un *origen monoclonal* a partir de una célula con mutación genética, pero una mitad es aneuploide con inestabilidad genética (Alexander y col., 1990; Herman y col., 1990; Jacoby y col., 1990; Melmed, 2011).

Un pequeño porcentaje, en su mayoría prolactinomas, está asociados con el síndrome hereditario de neoplasia endocrina múltiple tipo I (MEN1) (Melmed, 2003). Se estudió la clonalidad del tejido pituitario normal fresco de control y resultó policlonal. Los siguientes tumores eran monoclonales: 3 somatotropinomas, 4 prolactinomas, 3 corticotropinomas, 1 gonadotropinoma y 1 adenoma no funcionante. El adenoma plurihormonal era policlonal (Herman y col., 1990).

La *tumorogénesis* es promovida por las hormonas y los factores de crecimiento implicados en el desarrollo de la pituitaria. Los adenomas pituitarios tendrían su origen en la desregulación de los mecanismos de señalización. Las *células madre* han sido estudiadas mediante biomarcadores: CD133, CD44, nestin, nanog, enzima aldehído deshidrogenasa y tendrían capacidad para desarrollar adenomas pituitarios (Weiss y col., 2009; Lloyd y col., 2013). El *marcador neurotrófico factor 2 del receptor α (GFR α 2)* de células madre se halló en el remanente de la bolsa de Rathke de pituitarias normales y en gonadotropinomas, donde podría ser explicado su rol en la tumorogénesis hipofisaria (Mathioudakis y col., 2014). El **Sox2** fue detectado en las células embrionarias y en células madre pituitarias capaces de diferenciarse en los diferentes linajes de células productoras de hormonas y tendría incidencia en la oncogénesis pituitaria (Andoniadou y col., 2013).

En los adenomas pituitarios se han detectado *oncogenes y genes supresores de tumores* como **PKC, Ras, p53 y Rb**, responsables de su progresión (Ezzat, 2008; Melmed, 2011). Las herramientas del análisis genómico generadas por computadora identificaron los genes del tejido normal y de los adenomas en los que se hallaron 33 genes subexpresados que codifican las proteínas ribosomales con importancia en la tumorogénesis (de Lima y col., 2012). La baja regulación de los **microARNs** tiene un papel fundamental en la tumorogénesis hipofisaria humana (Palmieri y col., 2012).

Pease y col. (2013), en un estudio sistemático de 1.082 casos de adenomas pituitarios, extrajeron 47 tumores según criterios de inclusión. El análisis permitió demostrar un alto porcentaje de susceptibilidad a la modificación epigenética que tendría un rol clave en la *tumorogénesis* y en la progresión tumoral. La sobreexpresión de **CUL4A** reguló la proliferación celular pituitaria, contribuyendo a la progresión de los adenomas pituitarios (Xu y col., 2014). Se identificaron 4.545 genes en modelos experimentales de prolactinomas inducidos mediante estrógenos, 1.177 genes se asociaron a prolactinomas humanos y se le otorgó papel crítico a **Myc, E2F1, CEBPD y Sp1** (Tong y col., 2012).

Los pacientes con tumores familiares portaron mutaciones genéticas y epigenéticas en los genes supresores de la línea germinal con inactivación por la vía **Rb y p53** (Zhou y col., 2014).

Muchos *factores de transcripción* como el **FoxL2** se expresaron en el desarrollo pituitario normal y en diversos adenomas hipofisarios. Se lo halló en un 20% de las células pituitarias normales (en especial en gonadotropas) y en los núcleos de células adenomatosas de gonadotropinomas. Se cree que el **FoxL2** contribuye a la diferenciación de las gonadotropas y de los adenomas en general (Egashira y col., 2011). El **Sox2** detectado en las células madre y diferenciadas de la pituitaria mantiene la homeostasis y tendría capacidad para inducir tumores (Andoniadou y col., 2013). Duong y col. (2012) presentaron un análisis cuantitativo del genoma en adenomas hipofisarios esporádicos (14.000 genes) y en la metilación del ADN, permitiendo identificar los biomarcadores que predicen los patrones de crecimiento.

La inactivación funcional del *gen supresor del retinoblastoma (RB)* es importante en la patogénesis de muchos tumores humanos. Se informó la aparición frecuente de tumores pituitarios en ratones modificados genéticamente para tener un alelo **RB** defectuoso, un trasfondo genético análogo al de los pacientes con retinoblastoma familiar. La patogénesis molecular de los tumores pituitarios humanos se desconoce en gran medida y no se ha examinado el papel potencial de la inactivación del gen **RB** en estas neoplasias. Se estudiaron 20 tumores pituitarios humanos (12 tumores no funcionantes, 4 somatotropinomas, 2 prolactinomas y 2 corticotropinomas) para la pérdida alélica tumoral específica del gen **RB**. Ninguno de estos tumores humanos exhibió pérdida alélica **RB**. Estos hallazgos indican que la

inactivación del gen **RB** probablemente no juega un papel importante en la patogénesis de tipos comunes de tumores pituitarios humanos (Cryns y col., 1993).

Las *modificaciones epigenéticas* se refieren a una expresión génica que no altera la secuencia del ADN del gen. La más común es la *metilación del ADN* (Dudley y col., 2009). Muchos genes silenciados por un proceso de *hipermetilación* desempeñarían un papel clave en la tumorigénesis. Entre los oncogenes se puede citar la mutación **GNAS** que inactiva la GTPasa, aumentando el **AMPc**, con mayor síntesis y secreción de la GH (Melmed, 2011). El **p13K/AKT** está implicado en la regulación de la proliferación celular y juega un papel crítico en la tumorigénesis (Musat y col., 2005). La mutación del **PIK3CA** aparecería en adenomas agresivos y recurrentes (Lin y col., 2009), mientras el aumento de expresión del denominado gen de transformación tumoral pituitaria (**PTTG**) se asocia con invasión y alto índice de proliferación celular (Yu y Melmed, 2004).

Respecto a los *genes supresores de tumores* se puede citar el **GADD45** regulado por **p53** e implicado en la supresión del crecimiento celular y la apoptosis (Zhang y col., 2002), la proteína **AIP** que actúa como supresora tumoral (Vandeva y col., 2010), el **MEN1** que regula la transcripción y la proliferación celular (Melmed, 2003) y el **PRKARIA** que se asocia con la tumorigénesis endocrina (Bertherat y col., 2009). El oncogén **PTTG** se expresa en prolactinomas experimentales y humanos y está influenciado por los estrógenos, pero no se correlacionó con los niveles de PRL, el tamaño tumoral y el descenso del control dopaminérgico (Cristina y col., 2007). Los pacientes con tumores familiares presentaron mutaciones en la línea germinal a nivel de los genes predisuestos (**AIP**, **MEN1**, **PRKARIA**). Zhou y col. (2014) propusieron que la función de supresión tumoral de estos genes está principalmente mediada por las vías **Rb** y **p53**.

Existe un número de *reguladores del ciclo celular*: **Rb1**, **p16**, **p21**, **p27**, **ciclina D1** y **E** que jugarían un papel importante en la *tumorigénesis* (Melmed, 2011). Los **microARN** son una clase de ARN no codificantes cortos que regulan la postranscripción y la traducción y están involucrados en la progresión del tumor (Bartel, 2004; Calin y col., 2004; Mao y col., 2010; Zhou y col., 2013).

Los **miR23a**, **miR23b** y **miR24-2** estuvieron aumentados en prolactinomas y somatotropinomas (Bottani y col., 2005). Los **microARN** pueden funcionar como oncogénicos o como supresores tumorales (Butz y col., 2010). Los ARN largos no codificantes constituyen un subgrupo con más de 200 nucleótidos, entre los que puede citarse el **MEG3 (IncARN)** (Zhang y col., 2010). En los estudios de tumorigénesis se han agregado **microARNs** y ARN largos no codificantes (Zhou y col., 2013; Shi y col., 2012). También se han detectado mutaciones genéticas variadas (Daly y col., 2007; Marko y Weil, 2012).

El proceso tumorigénico en pacientes con adenomas familiares **AIP+** y **AIP-** mejoró las opciones diagnósticas y terapéuticas (Gadelha y col., 2013). En el 33% de los corticotropinomas se observó la pérdida de la función **Brg1** que se correlaciona con la expresión de la **ciclina E** y la pérdida del inhibidor del ciclo celular **p27** en el proceso de tumorigénesis hipofisaria (Roussel-Gervais y col., 2010). La desregulación epigenética es común y resulta de un control del ciclo celular y de la apoptosis (Asa y Ezzat, 2013).

Se necesita el desarrollo de líneas celulares de adenomas para clarificar el complejo proceso de la *tumorigénesis pituitaria* y los recientes avances han impactado sobre la clasificación de los adenomas hipofisarios, permitiendo establecer las características clínicas específicas y los cambios genéticos que predicen los protocolos terapéuticos (Mete y Asa, 2012). Resulta de gran valor el estudio de los *cambios genéticos y epigenéticos* involucrados en la tumorigénesis de los adenomas pituitarios, ya que se focalizan en el rol de los genes supresores, oncogenes y **microARNs** (Jiang y Zhang, 2013). Una serie de expresión génica (**SAGE**) permitió elaborar una biblioteca de somatotropinomas y de tejido pituitario normal.

La *apoptosis* representa la muerte celular programada y se produce en el remodelado fisiológico y en lesiones neoplásicas. Las moléculas **Bcl/Bax**, **Fas/FasL** y **caspasas** regulan el proceso de apoptosis. Kapranos y col. (2004) mostraron la morfología, la regulación molecular y la importancia de la apoptosis en adenomas, carcinomas e hiperplasias de la glándula pituitaria. Existen dos vías de activación de la apoptosis: *intrínseca* (mitocondrial) y *extrínseca* (muerte del receptor) y ambas desencadenan reacciones enzimáticas que conducen a la fragmentación celular y a la posterior fagocitosis. Esto se produce en estados fisiológicos y patológicos que controlan la proliferación, la diferenciación y la remodelación tisular. En la bolsa de Rathke se hallaron numerosas células apoptóticas, mientras que en la adenohipófisis

el porcentaje de apoptosis fue significativamente menor. Un desequilibrio en los genes que controlan el proceso de apoptosis marca el límite entre el desarrollo y el crecimiento neoplásico (Guzzo y col., 2014).

La **PRL de 16 kDa** (fragmento de PRL derivado de N-terminales) induce *apoptosis* e inhibe la proliferación celular, siendo modulada por los estrógenos. En la rata, un aumento en la tasa de apoptosis se produce en el proestro, mientras el pico de proliferación se detecta en el estro (Ferraris y col., 2011). La PRL endógena regula sus propias acciones biológicas en la pituitaria anterior mediante la inhibición de la expresión de la isoforma larga del receptor de PRL y actuaría como un factor antiproliferativo y proapoptótico para las células adenohipofisarias mediante mecanismos autocrinos y paracrinos.

El *receptor de PRL (PRLR)* se expresa mediante tres isoformas (una larga y dos cortas) que traducen señales intracelulares con efectos diferentes en un mismo tejido. Las fallas en la señalización de la PRL contribuirían a la progresión de los adenomas hipofisarios (Ferraris y col., 2012).

Concluyendo:

1. La hiperprolactinemia aguda inducida en ratas ovariectomizadas, usando inyección de PRL o un antagonista de la dopamina, aumentó la apoptosis y descendió la proliferación lactotropa.
2. Las deficiencias parciales o totales del RPRL pueden resultar en hiperplasia y en un eventual desarrollo de prolactinoma (Ferraris y col., 2014).

Se han señalado *marcadores de proliferación* en los tumores hipofisarios humanos para predecir su comportamiento. Wierinckx y col. (2010) revisaron el transcriptoma tumoral pituitario y analizaron la expresión génica que involucra el crecimiento celular, la proliferación y el ciclo celular. Los biomarcadores sirven para evaluar las funciones celulares que incluyen la progresión del ciclo celular, la proliferación celular, la apoptosis, la adhesión celular y la vascularización tumoral. Salehi y col. (2010) detectaron: **Ki-67**, factor de crecimiento endotelial vascular (**VEGF**), factor de crecimiento fibroblástico (**FGF**), **marcadores de apoptosis**, **p53**, **metaloproteinasas de la matriz**, **ciclooxigenasa-2** y **galectina-3**. Sav y col. (2012) presentan otra gama de biomarcadores de tumores hipofisarios que permitirían esclarecer los mecanismos patogénicos: **apoptosis**, **p53**, **ciclooxigenasa-2**, **galectina-3** y **PTTG**.

Los aportes dados por la microscopía electrónica, los radioinmunoensayos, la inmunohistoquímica, la neuroimagen y la genética molecular han abierto nuevos horizontes en el estudio de la patología hipofisaria (Asa y Mete, 2014).

De acuerdo al orden de frecuencia se citan: prolactinomas (25-41%), somatotropinomas (10-15%) y corticotropinomas (10%). Los demás tipos son menos frecuentes.

Kjaer (2015) revisó las neuroimágenes de la silla turca que han contribuido a la localización precisa de la patología hipofisaria y demostró las desviaciones de la pared anterior en asociación con el desarrollo frontonasal y de la pared posterior en relación a malformaciones (por ejemplo: en cerebelo). Los macroadenomas (> 1 cm) pueden llevar a: alteraciones del campo visual, compresión de los nervios craneanos, hipopituitarismo e infiltración de los senos cavernosos.

Los adenomas pituitarios exhiben diferentes patrones de crecimiento tisular: *difuso*, *papilar* y *sinusoidal* (Kovacs y Horvath, 1986a). La *reticulina* permite diferenciar un adenoma de una hiperplasia y también, la inmunotinción del *colágeno IV* es un método sencillo para el diagnóstico de adenomas pituitarios, ya que está disminuido en sus membranas basales (Jarzembowski y col., 2007).

Las técnicas histoquímicas diferencian adenomas *acidófilos* (células GH y PRL), *basófilos* o PAS+ (células ACTH, TSH, LH y FSH), *cromóforos* (sin gránulos secretorios) y *oncocíticos* (con gran número de mitocondrias) mediante las tinciones: H-E, PAS y PAS-orange (Kovacs y Horvath, 1986a, b; Lloyd, 1993).

16.2 Inmunohistoquímica de los adenomas hipofisarios

La inmunohistoquímica ha permitido marcar de modo específico los distintos tipos de adenomas hipofisarios según las hormonas detectadas en los gránulos secretorios (Kovacs y col., 1978; 1982 y 1989;

Katz y col., 1980; Felix y col., 1981; Mukai, 1983; Horvath y col., 1983 y 1984; Heitz y col., 1987; Bassetti y col., 1988; Robert y col., 1988; Newman y col., 1989; Sano y col., 1990; Chinezu y col., 2013).

En el **cuadro 16.1** se presenta la clasificación IHQ de los tumores hipofisarios (Raverot y col., 2014)

Cuadro 16.1 Clasificación inmunohistoquímica de los adenomas hipofisarios.

Tipo tumoral	Inmunoperfiles
Prolactinoma Densamente granulado Escasamente granulado	PRL PRL, α -SU
Somatotropinoma Monohormonal Densamente granulado Escasamente granulado	GH, (α -SU), Ck, (CgA) GH, (α -SU), Ck, (CgA)
Plurihormonal GH-PRL Mamosomatotropinoma	GH, PRL, (α -SU), β -TSH) GH, PRL, (α -SU), β -TSH)
Corticotropinoma Densamente granulado Escasamente granulado	ACTH, PRL, β -endorfina, β -LPH, Ck, (CgA) ACTH, PRL, β -endorfina, β -LPH, Ck, (CgA)
Tirotropinoma Monohormonal Plurihormonal	β -TSH, α -SU β -TSH, α -SU, GH, PRL
Gonadotropinoma No inmunoreactivo Tumores silenciosos	β -FSH, β -LH, (α -SU), CgA (CgA)
Mono-plurihormonal ACTH GH TSH	ACTH, β -endorfina, β -LPH GH, PRL, (β -TSH) β -TSH, α -Su, GH, PRL

16.3 Ultraestructura de los adenomas hipofisarios

Los estudios ultraestructurales de los adenomas pituitarios han aportado una mejor comprensión de su fisiopatología (Guyda y col., 1973; Corenblum y col., 1976; Horvath y col., 1983, 2005 y 2010; Horvath y Kovacs, 1984, 1988; 1986a, b y 1988; Trouillas y col., 1980 y 1981; Felix y col., 1981; Saeger y Ludecke, 1982; Neumann y col., 1984 y 1985; Bassetti y col., 1986; Sano, 1992).

Fig. 16.2: muestra un prolactinoma escasamente granulado.

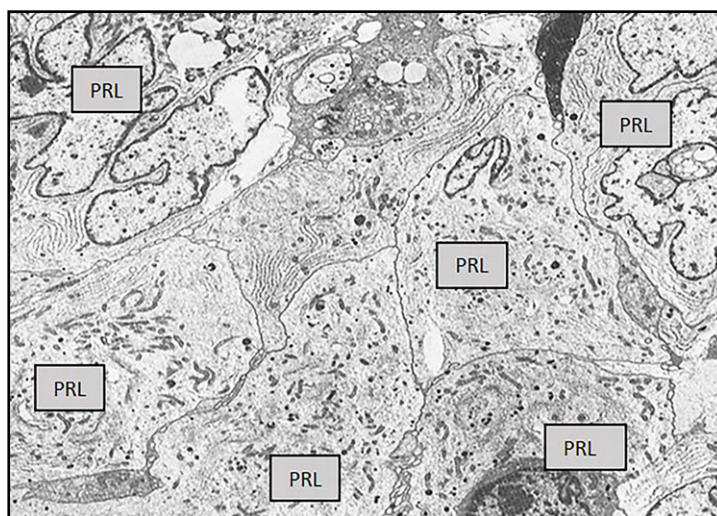


Fig. 16.2 Prolactinoma escasamente granulado (x 4.200) (Lloyd, 1993).

La **fig. 16.3** muestra un prolactinoma cuyo paciente recibió bromocriptina.

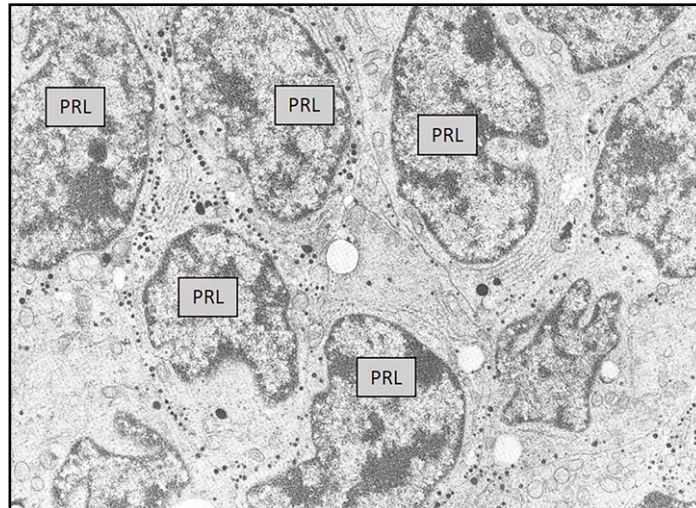


Fig. 16.3 Prolactinoma con bromocriptina.
Núcleos heterocromáticos, Golgi y RER involutivos (x 2.400) (Lloyd, 1993).

La **fig. 16.4** presenta un somatotropinoma densamente granulado.

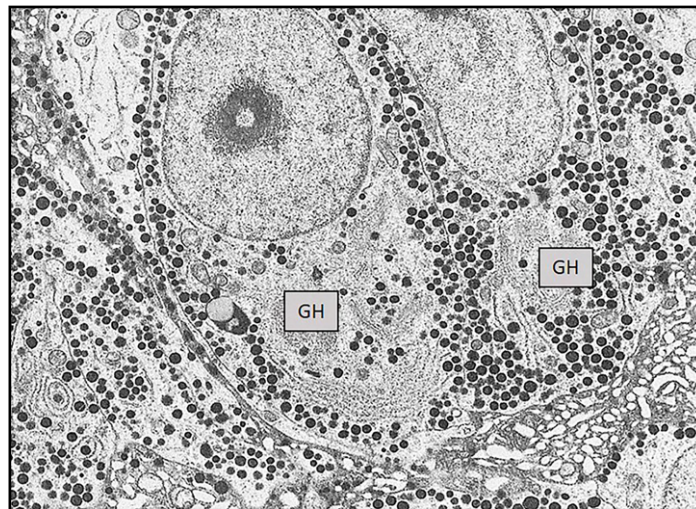


Fig. 16.4 Somatotropinoma densamente granulado (x 6.400) (Lloyd, 1993).

La **fig. 16.5** muestra un mamosomatotropinoma con una exocitosis.

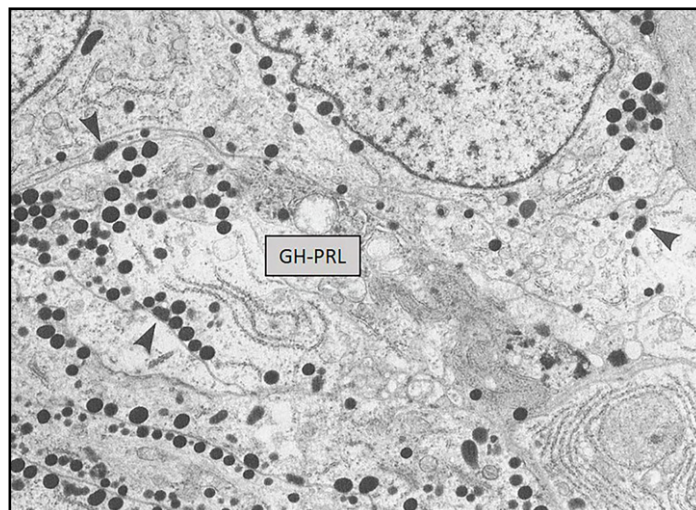


Fig. 16.5 Mamosomatotropinoma con exocitosis (x 8.100) (Lloyd, 1993).

Fig. 16.6: se ve adenoma mixto: células somatotropas/lactotropas.

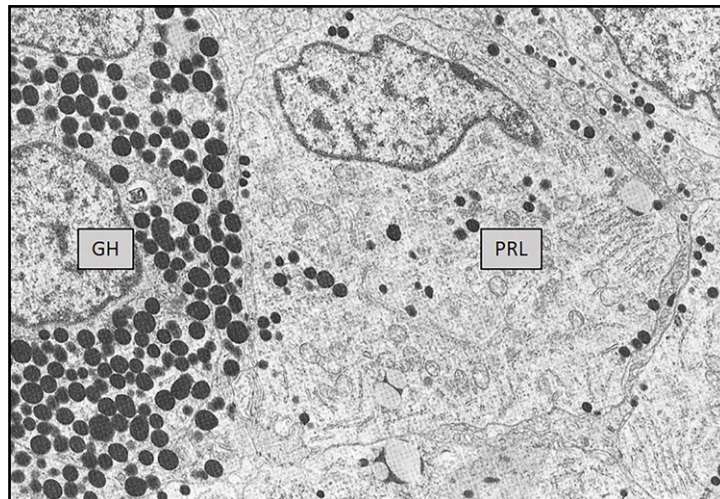


Fig. 16.6 Adenoma mixto. Izquierda: somatotropa; derecha: lactotropa (x 6.700).

Fig. 16.7: se observa un corticotropinoma y **fig. 16.8:** adenoma de Crooke.

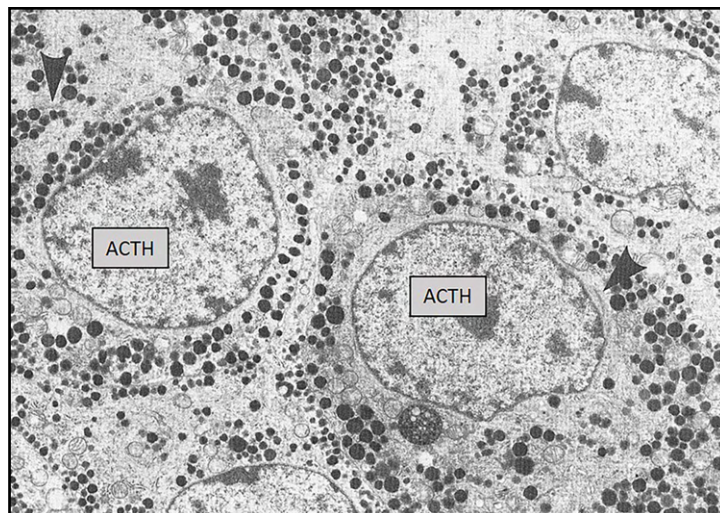


Fig. 16.7 Corticotropinoma densamente granuloso (x 6.500) (Lloyd, 1993).

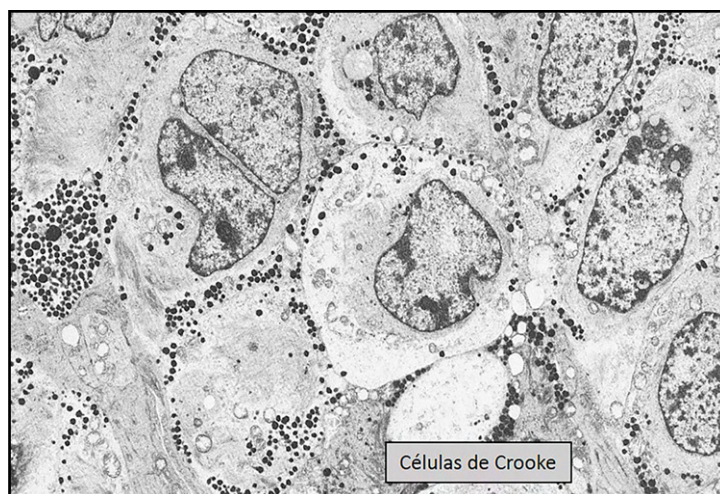


Fig. 16.8 Adenoma de células de Crooke. Gránulos secretorios periféricos y filamentos perinucleares tipo 1 (x 4.300) (Lloyd, 1993).

Fig. 16.9: muestra un gonadotropinoma.

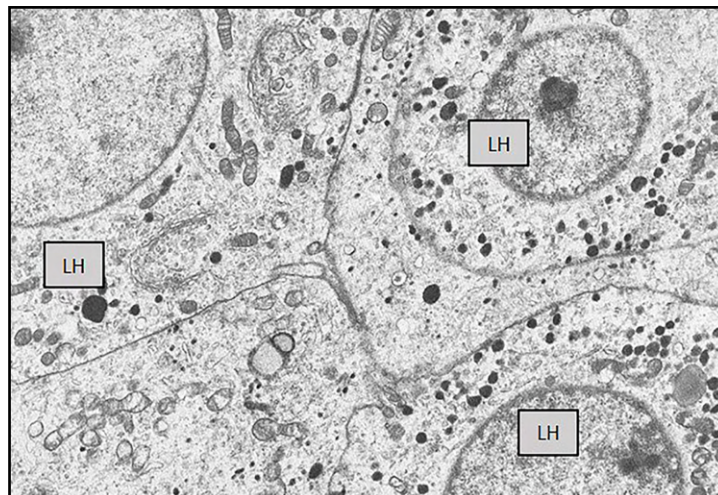


Fig. 16.9 Gonadotropinoma. Gránulos secretorios de desigual electrodensidad (Lloyd, 1993).

Fig. 16.10: presenta un tirotropinoma y **fig. 16.11:** un oncocitoma.

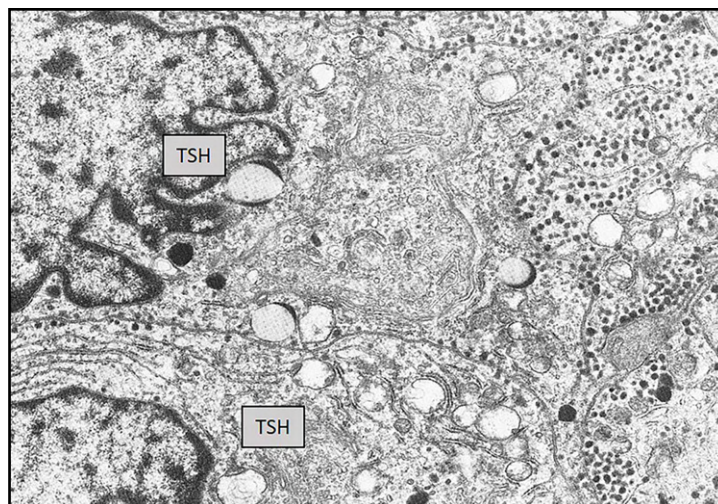


Fig. 16.10 Tirotropinoma. Golgi con numerosas vesículas y gránulos secretorios pequeños. (x 11.900) (Lloyd, 1993).

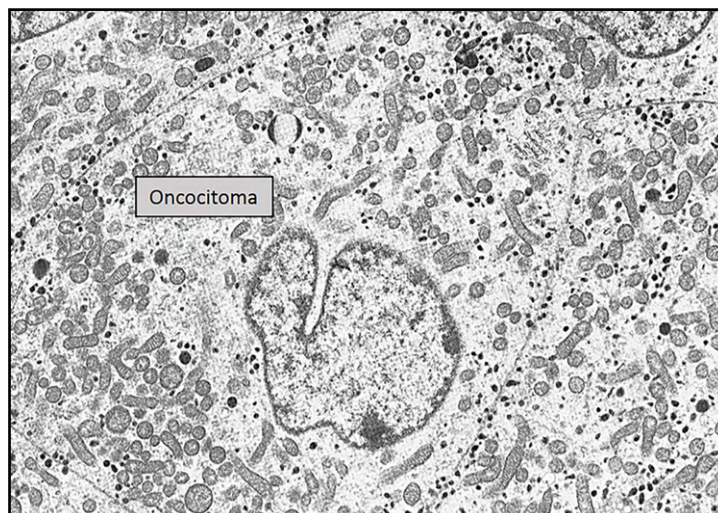


Fig. 16.11 Oncocitoma. Se ven numerosas mitocondrias (x 7.700) (Lloyd, 1993).

16.5 Diagnóstico de los adenomas hipofisarios

En el **cuadro 16.2** se ven las pruebas que facilitan el diagnóstico de los adenomas hipofisarios.

Cuadro 16.2 Diagnóstico de los adenomas hipofisarios

<p>Pruebas endocrinas:</p> <ul style="list-style-type: none">- Dosajes de hormonas hipofisarias.- Prolactinemia: PRL > 22 ng/ml.- Acromegalia: GH > 6 ng/ml.- No se inhibe con carga de glucosa. <p>Estudios neurológicos:</p> <ul style="list-style-type: none">- Campimetría.- Serie Rx de cráneo.- TAC.

16.5 Clasificación clínico-patológica de los adenomas hipofisarios

Los tumores pituitarios son históricamente considerados **benignos**. Sin embargo, varias piezas de evidencia clínica y los recientes avances en los datos patológicos y moleculares sugieren la necesidad de que estos tumores sean considerados más que una enfermedad endocrina, a pesar de la baja incidencia de metástasis. Trouillas (2014) cree que la mejor clasificación de estos tumores y la identificación de los marcadores pronósticos ayudarán a los médicos para escoger el manejo terapéutico adecuado (**cuadro 16.3**).

Cuadro 16.3 Clasificación clínico-patológica de los adenomas hipofisarios.

1. Tamaño del tumor: micro (< 10mm), macro (> 10mm y gigante (> 40mm)
2. Tipo tumoral: GH, PRL, ACTH, FSH/LH y TSH mediante inmunohistoquímica.
3. Grado: Criterios:
A. Invasión de senos cavernoso o esfenoidal.
B. Proliferación: al menos 2 de los 3 marcadores: Mitosis (> 2 en 10 campos de mayor aumento). Ki-67 (> 3%). P53 (positivo: > 10 núcleos + en 10 campos de mayor aumento).
Grados: 1a. no invasivo. 1b. no invasivo y proliferante. 2a. invasivo. 2b. invasivo y proliferante. 3. metastásico.

16.6 Clínica de los adenomas hipofisarios

Los adenomas hipofisarios muestran síntomas endocrinos de hiper/hipofunción glandular y síntomas neurológicos: cefalea, afección de los pares craneanos, hemianopsia bitemporal, hipertensión endocraneana. Las manifestaciones clínicas de los adenomas pituitarios se presentan con una sobre-

producción de hormonas en los *microadenomas* o un *efecto de masa* en los *macroadenomas* (Klibanski y Zervas, 1991).

Los *macroadenomas* usualmente incluyen defectos en los campos visuales resultantes de la compresión de los nervios ópticos, cefaleas, hipopituitarismo y, raramente, invasión de la base de cráneo con dolencias en los nervios intracraneanos. Sólo de modo excepcional, los tumores pituitarios son verdaderamente malignos con metástasis a distancia (Kaltsas y col., 2005).

El estudio de los tumores de la glándula pituitaria se hace mediante RNM con administración dinámica de un agente de contraste y la región selar debe ser mapeada en secciones finas (Jesser y col., 2014).

En el **cuadro 16.4** se señala la clínica de los adenomas hipofisarios y su expresión hormonal.

Cuadro 16.4 Clínica de los adenomas pituitarios.

Subtipos de adenomas	Porcentaje	Expresión hormonal	Manifestaciones clínicas
Prolactinoma	25-41	PRL	Galactorrea. Amenorrea.
Somatotropinoma Mamosomatotropinoma	10-20	GH (GH + PRL)	Acromegalia.
Corticotropinoma	5-15	ACTH	Síndrome de Cushing.
Gonadotropinoma	10-15	FSH, LH, subunidad α	Irregularidades menstruales. Hipopituitarismo. Efectos de masa tumoral.
Tirotropinoma	0.5-2	TSH, subunidad α	Hipertiroidismo.
Adenoma células nulas	5-10	Ninguna	Efectos de masa tumoral. Hipopituitarismo.

Los tumores secretores de PRL y de GH causan anormalidades reproductivas y síndrome de acromegalia, respectivamente (Monson, 2000). Los tumores productores de ACTH producen la enfermedad de Cushing (Arafah y Nasrallah, 2001) y los secretores de gonadotrofinas y TSH provocan anormalidades en sus respectivos ejes (Smallridge, 1987).

Giometto y col. (1997) inmunomarcaron las células folículo-estelares (FE) con S100, GFAP, vimentina y marcadores de macrófagos y las consideraron macrófagos residentes de la pituitaria. Iwaki y col. (1986); Miyazaki y col. (1988) y Li (1990) observaron una hiperplasia de células FE en adenomas pituitarios que puede ser inducida por el microambiente inflamatorio y presenta un inmunofenotipo de células dendríticas con coexpresión S100 y HLA-DR que las transforma en células presentadoras de antígeno. Es decir, serían capaces de ejercer una inmunovigilancia tumoral que explicaría su presencia en la periferia de los adenomas pituitarios (Miyazaki y col., 1988; Vajtai y col., 2007). Horvath y col. (2010) estudiaron las neoplasias selares con folículos típicos de la pituitaria y tejido pituitario fetal con diferenciación endocrina y asumieron que las células FE de la hipófisis humana serían células madre adultas con potencial neoplásico, hipótesis luego descartada.

Los adenomas hipofisarios familiares aislados comprenden 2% de los adenomas pituitarios. El receptor *aryl de hidrocarburo* interactúa con la proteína del gen (**AIP**) y se lo ha identificado como causante de la predisposición familiar (Beckers y col., 2013). También, debe hacerse un análisis genético en los pacientes jóvenes con macroadenomas esporádicos que presentan mutaciones de la línea germinal con neoplasia múltiple tipo 1 (MEN1) (Cuny y col., 2013). Los análogos de somatostatina modulan los adenomas somatotropos **AIP** mediante el regulador de dedo zinc de la apoptosis y la detención del ciclo celular (**ZAC1**) (Chahal y col., 2012; Oriola y col. (2012) estudiaron las mutaciones en la línea germinal

del gen AIP en somatotropinomas resistentes a los análogos de la somatostatina. Philippon y col. (2012) mostraron un control a largo plazo de un carcinoma MEN 1 secretor de PRL después del tratamiento con *temozolomida*.

Se estudiaron 1.000 pituitarias en una serie de autopsias no seleccionadas. La mayoría de las causas de muerte fueron enfermedades agudas o accidentes. En 178 glándulas se encontraron lesiones incidentales (34% lesiones eran mayores de 2 mm). Se incluyeron adenomas e hiperplasias, quistes de Rathke, infartos y hemorragias. El 74% de las 23 lesiones localizadas lateralmente eran adenomas y 87% de las 38 lesiones situadas medialmente eran quistes de la hendidura de Rathke. Estas lesiones se encontraron en el 5,8% a 8,3% de los sujetos de cada generación de 30 años o más. Las lesiones incidentales deben considerarse una causa de hallazgos de falsos positivos (6,1%) cuando se realiza un diagnóstico por imagen de un microadenoma hipofisario funcionante (Teramoto y col., 1994).

16.7 Prolactinomas

Los prolactinomas constituyen los adenomas hipofisarios funcionantes más frecuentes: más del 40% (McComb y col., 1984 y 1985; Gillam y col., 2006; Melmed y col., 2011). La incidencia de microprolactinomas es de un 27% en la población general, siendo un 41% inmunorreactivos para PRL. Una de cada diez personas muere con un prolactinoma sin ser diagnosticado (Burrow y col., 1981; Colao y col., 1998). Los prolactinomas tienen mayor incidencia en mujeres entre la segunda y quinta década de la vida. Hay una relación 14 a 1 entre mujeres y hombres durante la tercera década. Después de la quinta década, la incidencia de prolactinomas es mayor en los hombres. Son más frecuentes los macroprolactinomas en los hombres y los microprolactinomas en las mujeres adultas, debido a la expresión temprana de la sintomatología (Velkeniers y Hooghe-Peters, 1998). Tirosh y col. (2014) detectaron que los macroprolactinomas en hombres causaban hipopituitarismo parcial, afectando la testosterona en todos los adenomas y el cortisol en los pacientes con macroadenomas.

Para evaluar la efectividad de la bromocriptina en la reducción del tamaño de los macroadenomas secretores de PRL con extensión extraselar, se realizó un ensayo multicéntrico prospectivo en pacientes sin radioterapia previa, aplicando un protocolo estándar de tratamiento y evaluación del tamaño del tumor. Los niveles basales de PRL en suero [(1441 +/- 417) para mujeres; 3451 +/- 1111 ng/ml para hombres] disminuyeron en todos los pacientes. Se alcanzaron niveles normales de PRL en 18 de los 27 pacientes. En el 46%, el tamaño del tumor se redujo en más del 50%. El grado de reducción del tamaño del tumor no se correlacionó con PRL basal, PRL nadir, caída porcentual de PRL. La reducción en los niveles de PRL siempre precedió a cualquier cambio detectable en el tamaño del tumor. En los 4 pacientes en los que se suspendió la bromocriptina al final de 1 año, se produjo una reexpansión tumoral en 3. Los campos visuales mejoraron en 9 de los 10 pacientes. Debido a los excelentes resultados encontrados en la mayoría de los pacientes de esta serie, sugerimos que se considere el tratamiento con bromocriptina como tratamiento inicial para los pacientes con macroadenomas secretores de PRL. En los 4 pacientes en los que se suspendió la bromocriptina al final de 1 año, se produjo una reexpansión tumoral en 3. Los campos visuales mejoraron en 9 de los 10 pacientes en los que eran anormales. Se sugiere que se considere el tratamiento inicial con *bromocriptina* para los pacientes con macroadenomas secretores de PRL (Molitch y col., 1985; 1997). Los prolactinomas son una causa común de disfunción sexual y reproductiva. Se hicieron: historia clínica cuidadosa, examen físico, pruebas químicas de rutina y TSH, RM o TC para delimitar el tamaño y la extensión del tumor. La terapia médica es el tratamiento inicial de elección. Cuando la infertilidad es la principal indicación de tratamiento, se prefiere el uso de *bromocriptina* con una amplia experiencia en seguridad. Sin embargo, para otras indicaciones, la *cabergolina* parece ser más eficaz y mejor tolerada. La cirugía transesfenoidal sigue siendo una opción, especialmente para pacientes con microadenomas, cuando la terapia médica es ineficaz (Molitch, 1999).

La hiperprolactinemia causa alteraciones en la reproducción, descenso de la libido, amenorrea y galactorrea (Ezzat 2003). Los prolactinomas producen cefales, trastornos visuales, hipopituitarismo y parálisis de los nervios craneanos por compresión de las estructuras vecinas. Expresan el receptor de dopamina (**D2**) (Melmed y col., 2011). Resulta de interés su caracterización genómica en ratas y humanos. Drewett y col. (1993) hallaron aumento de apoptosis en una hiperplasia lactotropa inducida mediante estrógenos y tratada con bromocriptina. Salazar-López Ortiz y col. (2014) presentan una guía clínica práctica para el diagnóstico y tratamiento de la hiperprolactinemia en pacientes embarazadas y no embarazadas. Debe remarcar que niveles superiores a 150-200 ng/ml de PRL se consideran diagnósticos de prolactinoma. La *macroprolactina*, un complejo monomérico de PRL con inmunoglobulina G, puede ser causa de un diagnóstico de laboratorio de hiperprolactinemia.

Beda-Maluga y col. (2014) propusieron la evaluación de la hiperprolactinemia con el uso de los intervalos de PRL después de la separación de las macroformas y Jamaluddin y col. (2013) evaluaron la macroprolactinemia mediante cromatografía de precipitación con polietilenglicol y filtración en gel. Vilar y col. (2014) remarcan la necesidad de definir la etiología de la hiperprolactinemia ya que un nivel de 200-250 ng/ml puede no corresponder a un prolactinoma y 25% de los pacientes con microprolactinomas pueden presentar niveles de PRL inferiores a 100 ng/ml.

La *dopamina* (**DA**) es una molécula pequeña y relativamente simple que cumple diversas funciones. Dentro del cerebro, actúa como un neurotransmisor clásico cuya atenuación o hiperactividad puede resultar en trastornos como la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia. La DA llega a la hipófisis a través de la sangre portal hipofisaria de varios tractos nerviosos hipotalámicos que están regulados por la propia PRL, los estrógenos, los neuropéptidos y los neurotransmisores. La DA se une a los receptores de tipo 2 que están vinculados a los canales de membrana y a las proteínas G. La DA suprime la alta actividad secretora intrínseca de las lactotropas. Además de inhibir la liberación de PRL mediante el control de los flujos de calcio, la DA activa varias vías de señalización intracelular que interactúan y suprime la expresión del gen PRL y la proliferación de las lactotropas. La homeostasis de PRL debe considerarse en un delicado equilibrio entre la acción de la DA como inhibidor y los muchos factores hipotalámicos, sistémicos y locales que actúan como estimuladores, ninguno de los cuales ha emergido todavía como factor de liberación primario de PRL (Ben-Jonathan y Hnasko, 2001).

La DA tuberoinfundibular inhibe tónicamente la expresión y secreción de PRL de la glándula pituitaria mediante la activación de los receptores de dopamina D2 (**D2R**) localizados en las lactotropas. Los ratones hembras mutantes que carecen de **D2R** tienen hiperprolactinemia persistente pero también desarrollan hiperplasia de lactotropas, mientras que los ratones machos con deficiencia de D2R de la misma edad no tienen lesión adenohipofisaria morfológica. Se informó que los ratones deficientes en **D2R** tanto machos como hembras de 17 a 20 meses de edad desarrollaron prolactinomas. Varios de estos adenomas eran 50 veces más grandes que las glándulas normales con una marcada extensión supraselar e invasión del cerebro, pero sin evidencia de metástasis a distancia. Los hallazgos demostraron que una pérdida crónica de la inhibición de la DA neurohormonal promueve la *secuencia de hiperplasia-neoplasia* en lactotropas (Asa y col., 1999).

Se estudió el efecto del tratamiento con bromocriptina sobre los adenomas hipofisarios espontáneos, escasamente granulados y productores de PRL en ratas Long-Evans hembras envejecidas. Las ratas tratadas 1-44 días mostraron una marcada disminución en las concentraciones séricas de PRL (9,1-34 ng/ml) en comparación con los niveles séricos de PRL de los animales de control de la misma edad (94,6-233 ng/ml). El peso medio de la pituitaria (mg) se redujo significativamente en las ratas tratadas durante 44 días con bromocriptina (23,4 +/- 1,4) en comparación con los controles no tratados (43,4 +/- 8,3). En el momento del sacrificio, se encontraron prolactinomas en 16 de 33 ratas de control. El análisis morfométrico escasamente granulados reveló que aunque el área nuclear se redujo después de 1 día de tratamiento, el área citoplasmática se redujo solo después de 44 días. Los diámetros de los gránulos de formación aumentaron después de 44 días de tratamiento. En el RER los gránulos de formación, los gránulos de almacenamiento y las densidades de volumen del lisosoma aumentaron después de 1 día de tratamiento. La densidad de volumen de la región de Golgi disminuyó solo después de 44 días de tratamiento. Con-

cluimos que las ratas hembras envejecidas que albergan prolactinomas pueden responder a la administración de bromocriptina con una disminución de los niveles séricos de PRL y cambios morfológicos en las células del adenoma (Mc Comb y col., 1985).

Se investigó la *apoptosis* mediante microscopía electrónica y óptica en la pituitaria anterior de la rata Fischer macho en la que se había inducido *hiperplasia de las lactotropas* mediante estrógeno implantado SC durante 6 semanas. Los recuentos por microscopía óptica de células apoptóticas y células que contienen cuerpos apoptóticos fagocitados aumentaron durante un período de 44 hs después de la suspensión de estrógenos. La necrosis estuvo presente pero no fue prominente. La administración de bromocriptina después de la abstinencia de estrógenos aumentó los recuentos apoptóticos a casi el doble de aquéllos en ausencia de bromocriptina. Se observaron cuerpos apoptóticos fagocitados en las células folículo-estelares (Drewet y col., 1993).

En el **cuadro 16.5** se presentan los síntomas de la hiperprolactinemia (hombre y mujer).

Cuadro 16.5 Síntomas de la hiperprolactinemia.

MUJER	HOMBRE
Amenorrea	Menor libido
Galactorrea	Impotencia
Irregularidades menstruales	Infertilidad
Hirsutismo	Ginecomastia
Ovario poliquístico	Galactorrea
Infertilidad	
Osteopenia	

En el **cuadro 16.6** se muestra las causas de hiperprolactinemia:

Cuadro 16.6 Causas de la hiperprolactinemia

<p>1. Deficiencia de la dopamina hipotalámica:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Enfermedades hipotalámicas: tumores, malformaciones. - Secundaria a drogas: metildopa, reserpina, metoclopramida, cimetidina, doperidona, verapamil. <p>2. Deficiencia en el transporte de la dopamina hacia la adenohipófisis:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sección del tallo, micro-macroadenoma. <p>3. Insensibilidad de lactotropas a la dopamina:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Micro-macroadenoma. - Drogas: fenotiazinas, butifenonas. <p>4. Estimulación de las lactotropas:</p> <ul style="list-style-type: none"> - TRH (hipotiroidismo).
--

16.8 Somatotropinomas

Los somatotropinomas muestran altos niveles de GH/IGF-I y se tratan con análogos de la somatostatina (octreótido), provocando descenso de la grelina. En un estudio de Somm y col. (2013) se usó un inhibidor de la secreción del dominio de la *hormona liberadora de GH (GHRH)* y del dominio de la endopeptidasa de la toxina botulínica (**SXN101742**) que ejerció una acción inhibitoria sobre el eje somatotropo con fuerte inhibición de la síntesis pituitaria de la GH.

D'Angelo y col. (2012) identificaron microARN (**miARN**) que son reguladores de la expresión génica en somatotropinomas: **miR-34b**, **miR-326**, **miR-432**, **miR-548C-3p**, **miR-570** y **miR-603**. Su

baja regulación podría contribuir a la tumorigénesis hipofisaria. Los microARNs (**miR-26b** y **miR-128**) regularon el crecimiento del mamosomatotropinoma a través de la activación de la vía **PTEN-AKT** (Palumbo y col., 2013). Trivellin y col. (2012) detectaron una sobreexpresión del microARN **miR-107** en adenomas pituitarios y una inhibición de la expresión de la proteína del receptor de aril hidrocarburo (**AIP**).

16.9 Mamosomatotropinomas

Son adenomas mixtos con gránulos secretorios que contienen GH y PRL. Los mamosomatotropinomas muestran características ultraestructurales de somatotropas y lactotropas: complejo de Golgi prominente, RER y núcleos irregulares. El tamaño y el número de gránulos secretorios son variables. En algunas células, GH y PRL se almacenaron en gránulos secretorios distintos, en otras en gránulos mixtos (Bassetti y col., 1986). Se investigaron los tumores hipofisarios de 376 pacientes, utilizando técnicas inmunocitoquímicas ópticas/ultraestructurales y autorradiografía para localizar *receptores de somatostatina*. Se observaron con mayor frecuencia prolactinomas, somatotropinomas y adenomas no funcionantes (algunos eran oncocitomas). Se detectaron células con contenido mixto de PRL y GH y células que contenían exclusivamente PRL o GH (Heitz y col., 1987).

16.10 Corticotropinomas

Kovacs y col. (1996) realizaron valiosos estudios inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ* de los corticotropinomas. El estudio comparativo de los tumores con síntomas de hipercorticismismo demostró que un 45% eran corticotropinomas y 15% eran tumores extrapituitarios con secreción ectópica de ACTH.

Se analizaron parámetros clínicos, hormonales y morfológicos. Se estudiaron 46 corticotropinomas y 37 tumores neuroendocrinos secretores de ACTH. La estructura histológica de los corticotropinomas fue benigna en comparación con el grado de malignidad/invasión de los tumores neuroendocrinos (Kolesnikova y col., 2013). Se analizaron las características histológicas e inmunohistoquímicas de los corticotropinomas y tumores no hipofisarios que secretan ACTH. El estudio incluyó 46 corticotropinomas y 37 tumores secretores de ACTH ectópicos. Un estudio de las características de los tumores neuroendocrinos (TNE) arrojó los siguientes datos: capacidad para expresar ACTH, GH, LH, FSH y PRL en tumores NET hipofisarios y no hipofisarios. Se encontraron marcadores angiogénicos (**CD31** y **VEGF**) en igual frecuencia. La estructura histológica de todos los corticotropinomas sugirió su origen benigno, mientras que los TNE no hipofisarios tenían diferentes estructuras morfológicas, grados de malignidad e invasividad y propiedades metastásicas. El mayor potencial de proliferación celular (Ki-67) se descubrió en TNE en el síndrome de ACTH ectópica en comparación con los corticotropinomas (Lapsjina y col., 2013).

16.11 Tirotropinomas

Yamada y col. (2014) estudiaron las características clinicopatológicas y los resultados terapéuticos de 90 casos de adenomas secretores de TSH (18% microadenomas y 82% macroadenomas). La cirugía y el tratamiento con análogos de somatostatina lograron eutirodismo en el 83%, la reducción del tumor fue hallada en el 55% y no se presentó recurrencia en el 84% de los pacientes.

16.12 Gonadotropinomas

En la mayor parte de los pacientes con tumores secretores de gonadotrofinas, los síntomas son similares a los que presentan los pacientes con adenomas de células nulas. Dichos tumores gonadotrópicos comienzan como tumores no funcionantes en la clínica. Los adenomas de células nulas que no producen ninguna de las mencionadas hormonas, pueden ser considerados como el sexto tipo de adenomas pituitarios (Swensen y Kirsch, 2002; Melmed y Kleinberg, 2008).

16.13 Adenomas silentes

Los *adenomas subclínicos, silenciosos o incidentalomas* se caracterizan por la ausencia de manifestaciones clínicas, son hallazgos de necropsias o neuroimágenes y requieren un equipo multidisciplinario para su tratamiento con atención longitudinal (Scangas y Laws, 2013). Los adenomas silenciosos (no funcionantes) representan 14-28% de los tumores hipofisarios, causan síntomas de deficiencia por compresión y se detectan por RNM. La cirugía transesfenoidal es la primera opción para resolver los síntomas compresivos que provocan. Cazabat y col. (2014) detectaron múltiples microquistes en 76% de los adenomas corticotropos silenciosos mediante RNM ponderada en T2.

Buurman y Saeger (2006) estudiaron 3.048 autopsias, hallando 334 adenomas silenciosos por lo que no se reportaron síntomas de secreción hormonal: prolactinomas poco granulados: 39%, células nulas: 22%, oncocitomas: 31%, corticotropinomas: 46%, gonadotropinomas: 22%, somatotropinomas: 7% y tirotropinomas: 2%. Los adenomas GH silenciosos constituyen un reto diagnóstico y terapéutico. Se presentan como macroadenomas invasivos en mujeres jóvenes y requieren: determinación preoperatoria de GH-IGF-I, inmunohistoquímica del tumor (GH, PRL, expresión del receptor de somatostatina) y evaluación del grado de proliferación (mitosis: **Ki67** y **p53**) (Chinezu y col., 2013). Wade y col. (2011) comunicaron somatotropinomas silentes, sin aumento de la GH ni acromegalia y que parecen ser más comunes de lo que se pensaba (1/3 de los somatotropinomas). Salhi y col. (2006) estudiaron las correlaciones clínico-patológicas de 4 corticotropinomas silenciosos sin síndrome de Cushing. Se presentaron como macroadenomas con cefaleas, alteraciones del campo visual e inmunomarcación positiva para ACTH luego de la resección.

Mezzomo y col. (2012) evaluaron la expresión de los reguladores negativos de crecimiento celular **MEG3 GADD45y** que se pierden en la mayoría de los adenomas pituitarios humanos esporádicos clínicamente no funcionantes. Marko y col. (2012) remarcaron la importancia de las estrategias clínicas y moleculares integradas para predecir la recurrencia temprana en los adenomas pituitarios no funcionantes resecados por cirugía y utilizaron la expresión génica basada en microensayos para buscar subgrupos de diferente genotipo.

Molitch (2014) estudió los tumores pituitarios no funcionantes y, en ausencia de hipersecreción, hipopituitarismo o defectos del campo visual, puntualiza que deben ser seguidos con cribado periódico por RNM.

La inmunomarcación positiva para un subtipo de adenoma hipofisario puede ser clínicamente silenciosa y, por ejemplo, los corticotropinomas silenciosos siguen un curso más agresivo (Cooper y Melmed, 2012).

16.14 Adenomas multihormonales

Los adenomas multihormonales muestran inmunorreactividad para más de una hormona. Las combinaciones más comunes incluyen adenomas GH, PRL y una subunidad de glicoproteína (β TSH, β FSH, β LH y α SU) (Bassetti y col., 1986; Salehi y col., 2006; Luk y col., 2012). También hay rarezas como la combinación ACTH-GH (Rasul y col., 2014) (**cuadro 16.7**).

Cuadro 16.7 Adenomas multihormonales.

Tipos	%	ACTH	GH	LH/FSH	PRL	TSH	GSU	Número
PRL	27				X		X	Escaso
Sin hormonas	25							Común-escaso
GH	14		X			X	X	Escaso
ACTH	8	X			X		X	Escaso
GH-PRL	6		X		X			Muy común
LH-FSH	6			X	X			Detectable
TSH	1		X		X	X		Común
Plurihormonal	4		X	X	X	X	X	Detectable

16.15 Adenomas hipofisarios agresivos

El concepto de tumor pituitario agresivo (APT) se ha definido con precisión en los últimos años. Estos tumores se caracterizan por tener datos morfológicos (radiológicos o histopatológicos) de invasión, actividad proliferativa superior a la de los adenomas típicos y un comportamiento clínico caracterizado por resistencia a terapias estándar y recurrencias frecuentes. La ausencia de metástasis cerebroespinal o distante las diferencia del carcinoma hipofisario. Los APT representan aproximadamente el 10% de todas las neoplasias hipofisarias. El diagnóstico adecuado implica la participación no solo de la investigación radiológica y hormonal, sino también de una evaluación patológica completa que incluya marcadores de proliferación e IHQ para hormonas y factores de transcripción (Iglesias y col., 2020).

16.16 Tratamiento de los adenomas hipofisarios

Las terapias convencionales para los tumores pituitarios incluyen **neurocirugía, radioterapia y terapias farmacológicas** para algunos tipos tumorales. El tratamiento de primera línea para la mayoría de los tumores, excepto para los prolactinomas, es la resección quirúrgica con/sin radioterapia. Sin embargo, algunos adenomas pituitarios invasivos no pueden ser controlados por dichos tratamientos (Tomita y col., 1981; Vance y col., 1985; Halperin y col., 1987; Halberg y Sheline, 1987; Wemeau y col., 1988; Vos y col., 1988; Lamberts y col., 1989; Shimon y Melmed, 1998; Kovacs, 2014).

La terapia depende del tipo de adenoma hipofisario y debería ser manejada por un equipo de endocrinología y neurocirugía (Lake y col., 2013). Tratamiento de los somatotropinomas: *octreodina-pasireotida*; prolactinomas: *cabergolina-bromocriptina*; acromegalia: *pegvisomant*; tumores agresivos: *temozolomida* y en un futuro: **terapia génica** (McCance y col., 1989; Dannanberg y Dalkin, 1993; Melmed, 1997; Kopzak y col., 2014).

Los prolactinomas representan aproximadamente el 40% de todos los adenomas hipofisarios y son una causa importante de hipogonadismo e infertilidad. El objetivo final de la terapia para los prolactinomas es el logro del eugonadismo mediante la normalización de la hiperprolactinemia y el control de la masa tumoral. La terapia médica con agonistas de la DA es muy eficaz en la mayoría de los casos y representa el pilar de la terapia (Gillam y col., 2006).

La **cirugía transesfenoidal** (endonasal endoscópica) ha probado ser altamente efectiva en los microadenomas, pero puede tener complicaciones postquirúrgicas, como la aparición de una nueva dis-

función pituitaria, diabetes insípida y, a veces, la formación de una fístula, desarrollada aun en pacientes operados por un neurocirujano especialista (Tindall y Tindall, 1984; McCutcheon y col., 1990; Friedman y col., 1989; Sudhakar y col., 2004; Laws y col., 2004), con control operativo y perioperativo (Christian y col., 2014). La incidencia de complicaciones quirúrgicas después de la *cirugía transesfenoidal* por lesiones hipofisarias es baja. En este estudio retrospectivo se abordó la influencia del tamaño de la lesión y su patología sobre la incidencia de diferentes tipos de complicaciones y la tasa de remisión de los adenomas funcionantes. Se analizaron 126 operaciones transesfenoidales en 108 pacientes con patologías hipofisarias. La DI fue la más común (23%) y la incidencia fue mayor en los microadenomas y EC. Otras complicaciones importantes fueron: *hipopituitarismo* postoperatorio 22%, *fuga de LCR* 13%, *meningitis* 5,5%, *neumocefalia* 2,4%, *deterioro visual* 1,5%, *hematoma* 0,8% y *mortalidad* a 30 días 0,8%. Otras complicaciones encontradas fueron: hematoma subdural, epistaxis, SIADH, absceso esfenoidal, trombosis venosa profunda, infarto talámico e hidrocefalia. No se encontraron lesiones vasculares. La tasa de remisión general de la acromegalia y EC fue del 77 y el 81%, respectivamente. La tasa de remisión fue del 100% para los microadenomas (Sudhakar y col., 2004).

El tratamiento de los adenomas hipofisarios con *radioterapia convencional* es seguro y eficaz. La radiación controla los efectos de masa de los tumores grandes en el 80 a 90% de los pacientes y es especialmente valiosa para prevenir la recurrencia después de una resección parcial. En la acromegalia, alrededor del 80% de los pacientes están controlados; con la EC, la tasa de curación final es del 50-80%. Con la técnica de radiación adecuada, incluida la dosis adecuada y el tamaño de la fracción diaria, son raras las complicaciones de hipopituitarismo (Halberg y Sheline, 1987).

Se analizaron 465 pacientes con adenomas endoselares hipofisarios que pasaron por la *irradiación en el sincrociclotrón PNPI (1000 MeV)*. Debido a la alta energía del haz de protones, se utilizó la técnica de disparo rotativo-convergente. Se administró la dosis única de 80-100 Gy. En pacientes con prolactinomas se detectó remisión clínica en un 80%. Se observó una remisión clínica completa en el 92% de los pacientes con EC. Se observó una recuperación sostenida y una normalización completa del nivel de la GH durante el seguimiento a largo plazo en el 86% de los pacientes con acromegalia. La remisión clínica en pacientes con adenomas no secretores fue del 95%. La irradiación del haz de protones no estuvo acompañada de complicaciones graves que pusieran en peligro la vida. Por tanto, este tipo de tratamiento para los adenomas endoselares hipofisarios es muy eficaz y seguro (Granov y col., 2013).

El *hipopituitarismo inducido por radiación* se ha estudió de forma prospectiva durante hasta 12 años en 251 pacientes adultos tratados por enfermedad hipofisaria con radioterapia externa, con dosis que varían de 20 Gy en 8 fracciones durante 11 días a 45 Gy en 15 fracciones durante 21 días. Se estudiaron 10 pacientes con neoplasias hematológicas usando 12 Gy y 7 pacientes después de la radioterapia de todo el cerebro por un tumor cerebral primario (30 Gy). Cinco años después del tratamiento, los pacientes que recibieron 20 Gy tuvieron una incidencia de deficiencia de TSH del 9% y en pacientes tratados con 35-37 Gy, 40 Gy y 42-45 Gy, la incidencia de deficiencia de TSH fue de 22, 35 y 52% respectivamente y se incrementó significativamente con el aumento de la dosis. Se observó una relación similar para las deficiencias de ACTH y gonadotrofinas cuando se comparó el grupo de 20 Gy con los pacientes tratados con 35-45 Gy. La deficiencia de GH fue universal a los 5 años en el rango de dosis de 35 a 45 Gy. En 7 pacientes que fueron tratados con 30 Gy se observaron deficiencias con una frecuencia similar a la del grupo de 40 Gy. No se detectó evidencia de disfunción hipofisaria en los 10 pacientes que recibieron 12 Gy. Tanto la dosis de radiación total como el programa de fraccionamiento pueden determinar la incidencia de deficiencias de hormonas hipofisarias. La dosis por debajo de la cual no se producen deficiencias probablemente sea irrelevante para la irradiación terapéutica (Little y col., 1989).

Objetivos del tratamiento:

- a. Suprimir la excesiva secreción hormonal.
- b. Remover la masa tumoral.
- c. Preservar la función hipofisaria residual.
- d. Prevenir la recurrencia o progresión del adenoma.

Tanto la *radioterapia de haz externo fraccionada* como la *radiocirugía de fracción única* para los adenomas hipofisarios se asocian con el riesgo de disfunción del eje hipotalámico-hipofisario. Después de la radiación, 48% de los pacientes desarrollaron al menos un nuevo déficit hormonal, un 72% ocurrió en el grupo de Linac, 50% en el grupo de tomoterapia y 12,5% ocurrió en el grupo de bisturí de rayos gamma. En comparación con las técnicas fraccionadas, el *bisturí de rayos gamma* mostró una mejor preservación del hipotálamo para DMax Hypo y V12Gy. Para las modalidades fraccionadas, *TomoTherapy* mostró características dosimétricas mejoradas sobre el tratamiento basado en Linac con DMean hipotalámico (44,8 vs 26,8 Gy), DMax (49,8 vs 39,1 Gy) y V12Gy (100 vs 76%) (Elson y col., 2014).

1. Prolactinomas

Los objetivos del tratamiento de la hiperprolactinemia son suprimir la secreción hormonal excesiva y sus consecuencias clínicas, eliminar la masa tumoral, preservar la función hipofisaria residual y prevenir la recurrencia de la enfermedad. Antes del advenimiento de la farmacoterapia, la terapia generalmente consistía en resección quirúrgica y/o irradiación hipofisaria.

En los *microprolactinomas*, la resección quirúrgica transesfenoidal normaliza los niveles de PRL, restaura la menstruación normal y produce la desaparición de la galactorrea en una gran mayoría de pacientes, pero la normalización de los niveles séricos de PRL varía de 35 a 70%. En los *macroprolactinomas*, la cirugía transesfenoidal tiene menos éxito y sólo el 32% de los pacientes parecen estar curados inicialmente. Sin embargo, la tasa de recurrencia es del 19% y la tasa de curación a largo plazo es solo del 26%. En más del 80% de los pacientes con microprolactinoma, se puede lograr la supresión de los niveles de PRL y la reducción del tumor con la terapia con bromocriptina administrada en dosis de 2,5 a 5 mg por día. En un 5-10% de los pacientes, la aparición de efectos secundarios (náuseas, mareos e hipotensión postural) es un factor limitante para continuar el tratamiento. Los compuestos dopaminérgicos provocan una notable reducción del tumor en la mayoría de los macroprolactinomas. Se ha demostrado que el tratamiento con cabergolina a dosis semanales de 0,5 a 2 mg es eficaz tanto para normalizar los niveles de PRL como para inducir la reducción del tumor. La farmacoterapia con *agonistas de la dopamina* es un tratamiento de primera línea adecuado para los microprolactinomas y los macroprolactinomas. La cirugía debe recomendarse para aquellos pacientes que son severamente intolerantes o resistentes a los agonistas de DA (Colao y col., 1998).

Los agonistas de la DA constituyen el tratamiento preferido tanto para los microprolactinomas como para los macroprolactinomas sintomáticos. Estos fármacos dan como resultado la normalización de los niveles hormonales y la reducción del tumor en la mayoría de los pacientes tratados. La *cabergolina* y *bromocriptina* parenteral con duración prolongada ofrecen un mejor tratamiento y buenas tasas de curación. Para la acromegalia, corticotropinomas, tirotropinomas y los adenomas no funcionantes, la cirugía a menudo resulta en la curación. La *octreotida* y los *análogos de somatostatina de liberación lenta* son alternativas médicas eficaces o adyuvantes para la cirugía transesfenoidal en pacientes con somatotropinomas y tirotropinomas (Shimon y Melmed, 1998).

Los macroprolactinomas pueden manejarse con *agonistas dopaminérgicos, cirugía y radioterapia*. El objetivo era evaluar los resultados de estas modalidades de tratamiento. Se analizaron 100 pacientes con macroprolactinomas. El tratamiento con un DA se asocia con mejores resultados en términos de función hipofisaria y, como tal, representa la terapia óptima de primera línea para los macroprolactinomas. La cirugía y la radioterapia deben reservarse para los pacientes que son intolerantes o resistentes. Después de la cirugía y/o la radioterapia, la mayoría de los pacientes aún requieren un DA para controlar la hipersecreción de PRL (Green y col., 2014).

Se analizaron 8 pacientes con macroprolactinomas tratados con una forma inyectable de *bromocriptina de acción prolongada* (Parlodel LAR) a intervalos de 28 días durante seis meses. En todos los pacientes, hubo una caída significativa en los niveles de PRL sérica después de la primera inyección. La secreción de PRL se suprimió dentro del rango normal en 3 de 7 pacientes. La PRL estuvo dentro del rango normal

en 2 pacientes. En otros 4 de los 7 pacientes, se registró una marcada supresión de la secreción de PRL, reanudación de la menstruación y de la libido. En 3 de 8 pacientes, no se observaron efectos adversos; 2 pacientes informaron náuseas; 1 vómitos, 1 estreñimiento y en 2 pacientes se produjo mareo ortostático. Sin embargo, las inyecciones posteriores se toleraron bien de forma sistemática y local. En 5 pacientes hubo evidencia de retracción del tumor en la TC. Un tumor muy grande desapareció después de la primera inyección de 50 mg de bromocriptina de depósito en 1 paciente. La disminución de la secreción de PRL en suero dentro de las primeras 12 horas después de la inyección no predijo la normalización de los niveles de PRL sérica durante el tratamiento a largo plazo, mientras que la caída de los niveles de PRL sérica por debajo del 5% de los valores basales dentro de los primeros meses de tratamiento podría ser un buen indicador del resultado final (Kocijancic y col., 1990).

Los prolactinomas se tratan con medicamentos dopaminérgicos como la *bromocriptina* y *cabergolina*, pero un 20 % de los pacientes desarrollan resistencia o recidivan (Melmed y col., 2011). Los pacientes con *microprolactinomas* y *sin síntomas* deben ser sometidos a una conducta expectante, con un seguimiento periódico mediante dosajes de la PRL sérica y estudios de imágenes de la región selar (Molitch, 1999).

Se analizaron 191 pacientes hiperprolactinémicos (78 mujeres y 13 hombres; 54 con macroadenoma hipofisario, 53 con microadenoma y 84 con enfermedad idiopática) que fueron tratados durante 2 a 48 meses con uno o dos de los siguientes fármacos reductores de PRL: *bromocriptina*, *metergolina* y *lisurida*. Los tres fármacos utilizados fueron muy eficaces para reducir los niveles de PRL (Crosignani y col., 1982).

El análisis morfométrico del tamaño de las lactotropas adenomatosas muestra que la contracción celular inducida por bromocriptina se detiene si el tratamiento con el fármaco se interrumpe durante más de 2 días. Los diferentes componentes celulares (núcleo, citoplasma, nucleolo) no reaccionan al tratamiento en la misma medida (Landolt y col., 1983).

El tratamiento prolongado de pacientes con prolactinomas hipofisarios con *bromocriptina* puede aumentar la consistencia del tumor, dificultando así la extirpación selectiva. Se realizaron determinaciones cuantitativas de la cantidad de tejido fibroso perivascular en prolactinomas en micrografías electrónicas aleatorias, comparando un grupo de 21 pacientes tratados con bromocriptina durante períodos superiores a 3 meses y un grupo control de 21 pacientes que no recibieron bromocriptina. El análisis estadístico de los datos mostró un aumento significativo de tejido fibroso perivascular en el grupo tratado. Se sospecha que esta fibrosis es consecuencia de la rápida retracción de las lactotropas del adenoma provocada por la bromocriptina (Landolt y Osterwalder, 1984).

Las terapias farmacológicas con agonistas de la dopamina: *bromocriptina*, *cabergolina* y *quinagolida* actuarían sobre receptores **D2** presentes en las membranas de las lactotropas, provocando un descenso de la proliferación celular y de la hiperprolactinemia en pacientes portadores de prolactinomas secretores (Tindall y col., 1982; Crosignani, 1982; Landolt y col., 1983 y 1984; Molitch y col., 1985; Molitch, 1989, 1997 y 1999; Dalkin y Marshall, 1989; Pellegrini y col., 1989; Melis y col., 1989; Colao y col., 1998; Serri y col., 2003).

Los macroprolactinomas redujeron su tamaño con **bromocriptina** (Bassetti y col., 1984; Bevan y col., 1989; Kocijancic y col., 1990) (**cuadro 16.8**).

Cuadro 16.8 Tratamiento de los prolactinomas secretores.

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Médico: bromocriptina, cabergolina, pergolina, lisurida, quinagolida.2. Quirúrgico: hipofisectomía transesfenoidal.3. Radioterapia. |
|---|

Se administraron diferentes dosis semanales (400 a 3.000 µg) de *cabergolina* de acción prolongada a 11 mujeres hiperprolactinémicas con prolactinomas. Se realizaron TC antes y después del tratamiento, así como determinaciones periódicas de la PRL plasmática. La cabergolina indujo una marcada inhibición de la secreción de PRL y una reducción del tamaño del tumor en todos los pacientes (Melis y col., 1989).

Se comunicó un estudio que determinó los mecanismos responsables de la *resistencia a la bromocriptina* en pacientes con *macroadenomas secretores de PRL o microadenomas*. El valor de PRL plasmática basal medio fue 807 +/- 220 µg/L antes del tratamiento. En 4 de los 8 pacientes hubo aumento en el tamaño del tumor durante la terapia. En cultivos de lactotropas de pacientes que responden a la terapia con bromocriptina, (controles con 10 (-9) mol/L de bromocriptina) se inhibió la liberación de PRL en un 71%. En los cultivos de lactotropas de prolactinomas de 5 pacientes resistentes a bromocriptina, la liberación de PRL se inhibió solo un 3-42% (10 (-9) mol/L de bromocriptina). Esta inhibición parcial se revirtió con un exceso de haloperidol de 100 veces. Además, la DA inhibió la actividad de la adenilato ciclasa en un 28,8% en 5 tumores que respondían a la bromocriptina y en un 16,5% en los adenomas de 8 pacientes resistentes. Por el contrario, en los 5 pacientes cuyos tumores crecieron durante la terapia, la DA estimuló paradójicamente la actividad de la adenilato ciclasa (26,4 %). Hubo una muy buena correlación entre la densidad de los sitios de unión dopaminérgicos y la inhibición máxima de la actividad de la adenilato ciclasa en pacientes con prolactinoma que responden a bromocriptina (Pellegrini y col., 1989).

La *cabergolina* es más eficaz y mejor tolerada que la bromocriptina en mujeres con amenorrea hiperprolactinéica (Webster y col., 1994).

La **bromocriptina** es segura y eficaz para el tratamiento de prolactinomas invasivos. Mientras tanto, la cirugía tiene un papel limitado en la remisión bioquímica. La disminución de la mejora en la RM de seguimiento inicial después de la medicación puede reflejar la respuesta al tratamiento (Cho y col., 2013).

Se administró *bromocriptina de acción prolongada* a 7 pacientes con macroadenomas hipofisarios (4 acromegálicos, 1 síndrome de Nelson y 2 prolactinomas), con buena tolerancia excepto durante las primeras 24 hs. Durante un período de 42 días se siguieron las variaciones hormonales, de TC y del campo visual. En acromegálicos, la disminución de GH no fue evidente, excepto en alguna muestra aislada. En el síndrome de Nelson, la ACTH mostró una caída del 94% el día 14, aunque no se puede descartar una oscilación espontánea y la recuperación se produjo a partir del día 21. En los prolactinomas, la PRL sufrió un gran descenso (91,8% y 96,3% los días 21 y 28 respectivamente). En estos 2 pacientes, la TC mostró una reducción de la masa tumoral, que no se observó en los 5 casos restantes. Los campos visuales no mejoraron en los 2 casos inicialmente afectados (síndrome de Nelson y 1 prolactinoma). La bromocriptina de acción prolongada parece tener los mismos usos terapéuticos que la forma oral con la posible ventaja de una mejor tolerancia a las dosis iniciales completas (Halperin y col., 1987).

Se hizo un estudio morfológico de 8 macroprolactinomas extraídos quirúrgicamente de pacientes no tratados y de 9 macroprolactinomas extraídos de pacientes tratados con bromocriptina (Brc) (7 pacientes tratados durante 6 semanas y 2 de pacientes tratados durante 1 año). Todos los pacientes tratados tenían reducidos los niveles de PRL sérica y el tamaño tumoral (TC). Tanto el citoplasma como el núcleo se contrajeron, pero la reducción del citoplasma fue mucho mayor que la del núcleo. La contracción del citoplasma fue una consecuencia de la marcada involución del RER y el complejo de Golgi en los tumores tratados con Brc. Este efecto podría estar relacionado con la inhibición de la síntesis de PRL por el fármaco (Bassetti y col., 1984).

2. Somatotropinomas

En los pacientes con *somatotropinomas secretores*, los *análogos de somatostatina y las preparaciones de depósito: octreotido* pueden bajar la hipersomatotropinemia a niveles compatibles con una calidad de vida aceptable en el largo plazo. La supresión de la hipersecreción de la GH, el descenso de la producción del IGF-I y el control de los síntomas, han sido beneficiosos en dicha terapia. Además, una significativa reducción del tumor se comunicó en numerosos estudios, en especial en pacientes que sobrellevan una terapia médica primaria (Clemmons y col., 1979; Melmed y col., 1983; Jackson y col., 1988; Daughaday, 1990; Ho, 1990; Fredstorp y col., 1990; Bevan, 2005; Sommi y col., 2013). Ninguno de los tratamientos farmacológicos cura los tumores que pueden tener recurrencias si se discontinúan. Chinezú y col. (2014) comunicaron la expresión de los receptores de somatostatina (**SSTR2A** y **SSTR5**) en 108 tumores pitui-

tarios endocrinos mediante detección inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales específicos que pueden ayudar en la elección de un tratamiento médico postoperatorio.

Los somatotropinomas que causan gigantismo son poco frecuentes en la infancia y la adolescencia. Se comunicó que la cirugía hipofisaria transnasal es tan segura en pacientes pediátricos con gigantismo como en adultos. Los somatotropinomas en la infancia y la adolescencia tienen más probabilidad de ser invasivos o agresivos que los de la edad adulta (Abe y col., 1999).

La cirugía seguida de radioterapia o radiocirugía en caso de tumores remanentes o recurrentes, siguen siendo la piedra angular de los *adenomas hipofisarios no funcionantes* (Pereira y Biermasz, 2012).

Se investigó el impacto del pretratamiento con octreótido en diferentes somatotropinomas y el resultado de la cirugía transnasal. El tratamiento con octreótido mejoró la alta tasa de remisión endocrinológica en macroadenomas invasivos potencialmente resecables por vía transnasal. Se encontró que la tasa de reducción del tumor disminuye con el tamaño extraselar. Con excepción del crecimiento tumoral en un 7% de los adenomas invasivos y la apoplejía pituitaria en un paciente, no hubo desventajas asociadas con el pretratamiento con octreótido (Abe y Lüdecke, 2001).

Los *somatotropinomas escasamente granulados*, los *corticotropinomas* y los *mamosomatotropinomas silenciosos* tienen conducta potencialmente *agresiva* (Raverot y col., 2014). Algunos somatotropinomas silenciosos agresivos fueron resistentes a la *temozolomida* (Batisse y col., 2013). Los adenomas hipofisarios invaden con frecuencia los senos adyacentes o recidivan luego de la primera cirugía. La expresión de *endocan*, un proteoglicano secretado por las células endoteliales de los adenomas, puede ser un inmunomarcador relevante del comportamiento agresivo de los tumores pituitarios (Cornelius y col., 2012; Matano y col., 2014). La terapia con *anti-factor de crecimiento endotelial vascular (anti-VEGF)* resultó efectiva en carcinomas pituitarios (Ortiz y col., 2012a-b; Raverot y col., 2012). Roelfsema y col. (2012) estudiaron los factores clínicos implicados en la recurrencia de los adenomas pituitarios después de la remisión quirúrgica y detectaron que el nivel hormonal basal postoperatorio es el predictor más importante de recurrencia de los adenomas funcionantes. Un estudio inmunohistoquímico y molecular demostró que la expresión de *galectina-3 (Lgals3)* sería un factor predictivo en la conducta agresiva de los adenomas hipofisarios (Righi y col., 2013). En los adenomas agresivos se utiliza *temozolomida* que logra controlarlos en el 40% de los casos (Raverot y col., 2012; Di Ieva y col., 2014; Cámara Gómez, 2014).

La radioterapia es usualmente empleada como un tratamiento adyuvante después de la cirugía tumoral pituitaria (Sutton, 1985; Halberg y Sheline, 1987; Grigsby y Sheline, 1990; Sheppard, 1994 y 2005). Aunque la irradiación resulta efectiva para prevenir la recidiva tumoral, causa complicaciones, siendo la más frecuente el *hipopituitarismo* (58 a 83%) (Littley y col., 1989). En algunos casos se ve lesión del nervio óptico (2%) y necrosis cerebral por radiación (0,2%). Aunque es infrecuente, la radiación puede inducir fibrosarcomas y osteosarcomas. La radioterapia focalizada, ya sea en la forma de radioterapia multiarco estereotáxica o en corte gamma que pueden ser aplicadas en un área pequeña, tiene la ventaja de reducir el daño de los tejidos normales pituitarios y de las estructuras vasculares y neuronales vecinas (Kaltsas y col., 2005; Laws y col., 2004; Kovacs, 2014). Elson y col. (2014) estudiaron el efecto del tratamiento del eje hipotálamo-pituitario con radioterapia conformacional 3D basada en un acelerador lineal con tomoterapia de intensidad modulada (IMRT) o radiocirugía estereotáxica con cuchillo gamma y presentaron la dosimetría máxima. Granov y col. (2013) mostraron los resultados de la efectiva radiocirugía con protones en los adenomas pituitarios endoselares.

3. Corticotropinomas

Se evaluó la eficacia antitumoral de *everolimus* en el carcinoma hipofisario resistente a *temozolomida*. Los carcinomas hipofisarios son raros y en gran medida no responden a las opciones de tratamiento actuales. Los informes recientes sobre la eficacia antitumoral de la *temozolomida* en algunos de estos pacientes son alentadores, aunque la mayoría de los pacientes parecen mostrar resistencia a sus acciones. Como alternativa potencial, se ha demostrado que el inhibidor de mTOR: *everolimus*, inhibe de

forma potente la proliferación de células pituitarias, destacando la inhibición de mTOR como un enfoque terapéutico prometedor para los carcinomas hipofisarios. Se describió una terapia combinada con *everolimus* (5 mg/día) y octreótido (30 mg/mes) y la expresión de señalización de mTOR en un paciente con carcinoma de ACTH hipofisario, en comparación con otros 17 adenomas de ACTH. La terapia combinada no logró controlar el crecimiento del tumor hipofisario y la secreción de ACTH. El tratamiento con *everolimus* fue ineficaz para controlar la secreción y el crecimiento tumoral de un corticotropinoma. La baja eficacia antitumoral mostrada por *everolimus* podría explicarse por la débil activación de la vía mTOR en los corticotropinomas (Jouanneau y col., 2012).

El SC se asocia con una morbilidad y mortalidad significativas si no se trata debido a las complicaciones metabólicas y cardiovasculares asociadas. Un paciente con síndrome de Cushing causado por un macroadenoma hipofisario productor de ACTH (corticotropinoma) respondió de manera espectacular al tratamiento con *ketoconazol* y *cabergolina*. Su tratamiento médico de 4 meses resultó en una mejoría clínica y bioquímica del hipercortisolismo y en la desaparición completa del macroadenoma hipofisario sin ninguna intervención quirúrgica (Ahmed y col., 2012).

La EC es poco común en la infancia. Por lo general, es causada por la secreción excesiva de ACTH por un corticotropinoma. La anomalía clínica a menudo no se detecta durante largos períodos de tiempo. Las principales características clínicas son el retraso del crecimiento y la obesidad. Los pacientes presentaron cara de luna y aumento de grasa alrededor del cuello. En todos los pacientes, el cortisol libre en orina de 24 horas fue alto y la pérdida del ritmo circadiano de cortisol sérico normal (3/3). El microadenoma hipofisario se detectó mediante RM. La terapia consistió en cirugía transesfenoidal en todos los pacientes (Martínez Ruiz y col., 2003).

4. Tirotropinomas

Los tirotropinomas se diagnosticaron con mayor frecuencia a medida que han mejorado las técnicas Rx y los ensayos bioquímicos, aunque son poco frecuentes. Este informe se refiere a 8 pacientes con hipertiroidismo, niveles elevados de TSH sérica y evidencia Rx de tumor. Todos se sometieron a cirugía y tenían confirmación histopatológica de un tirotropinoma. Solo un tumor fue un microadenoma; los otros tenían un tamaño de 1,4 a 12 cm y era común la invasión de estructuras paraselares. Se midieron TSH, T3, T4 y subunidad α en el pre/posoperatorio. Las anomalías hormonales coexistentes incluyeron acromegalia e hiperprolactinemia. Los tirotropinomas se curan con menos facilidad mediante cirugía que otros tipos de adenomas debido al gran tamaño y sus características invasivas (McCutcheon y col., 1990).

Un paciente con un tumor hipofisario mixto secretor de TSH y GH fue tratado, 3 meses después de la adenomectomía parcial, con el análogo de somatostatina **SMS 201-995** durante 8 meses. La propia somatostatina inhibió la liberación de TSH, GH y subunidades α por parte del tumor. El tratamiento a largo plazo (SC) 2 veces al día dio como resultado una disminución de la secreción de TSH y niveles más bajos en suero. Sin embargo, el eutiroidismo se logró solo cuando el paciente fue tratado con tres inyecciones diarias de 200 μ g de **SMS 201-995**. Después de 30 semanas de terapia, la secreción de TSH aumentó, mientras que la secreción de GH permaneció suprimida. Después de la abstinencia durante 6 meses, **SMS 201-995** (100 μ g, SC, 2 veces al día) inhibió nuevamente por completo la secreción de TSH. **SMS 201-995** no alteró el volumen del tejido adenomatoso residual. Concluimos que **SMS 201-995** puede ser un agente terapéutico valioso para el manejo de pacientes con tirotropinomas, pero la desensibilización puede ocurrir durante el tratamiento a largo plazo (Wemeau y col., 1988).

5. Gonadotropinomas

Los tumores hipofisarios secretores de glucoproteínas son poco frecuentes. El tratamiento estándar de los gonadotropinomas es la resección quirúrgica y, posiblemente, la radioterapia posopera-

toria para la masa tumoral residual. Se presentó un paciente con un tumor secretor de subunidades α y FSH que rechazó la cirugía y fue tratado con bromocriptina como terapia primaria dando como resultado una reducción de los niveles séricos de FSH y subunidad α a la normalidad, mejoría de los defectos del campo visual y mejora del hipogonadismo a pesar de la falta de un cambio demostrable en el tamaño del tumor (TC). Las respuestas clínicas y bioquímicas en este paciente sugieren que algunos tumores secretores de glucoproteínas pueden responder a la terapia con agonistas de DA (Vance y col., 1985).

Se comunicó un gran tumor hipofisario en un hombre de 20 años que acudió a atención médica debido a convulsiones. El tumor produjo LH biológicamente activa, como lo demuestran los altos valores de testosterona y LH plasmática. Los valores de la subunidad α libre también se elevaron. Por el contrario, la FSH plasmática se encontraba en el rango normal más bajo. La operación transesfenoidal no logró eliminar todo el tejido tumoral. Se realizaron estudios detallados en el postoperatorio. La administración de TRH y GnRH se asoció con un aumento de la LH plasmática y la subunidad α , mientras que la FSH plasmática fue baja y no respondió. El tratamiento con bromocriptina fue ineficaz. Por el contrario, tanto durante como después del tratamiento con SMS 201-995 durante 6 semanas, se observó una disminución de los valores de LH plasmática basal. El estudio sugiere que SMS 201-995 puede ser útil en el tratamiento de pacientes con gonadotropinomas (Vos y col., 1988).

6. Adenomas no funcionantes

Los *adenomas clínicamente no funcionantes* son los macroadenomas hipofisarios más frecuentes en adultos. Estos tumores se caracterizan por la ausencia de hipersecreción hormonal detectable y se diagnostican cuando se presentan síntomas de compresión o deficiencias hormonales. El tratamiento de elección de los macroadenomas es la cirugía, pero la resección tumoral suele ser incompleta y presenta recidiva tumoral. Se ha demostrado que la terapia médica produce una modesta reducción tumoral en algunos pacientes. Se debe considerar la irradiación posoperatoria en pacientes con grandes restos tumorales o aumento de los restos durante el seguimiento. La radioterapia estereotáctica se ha desarrollado para disminuir las complicaciones a largo plazo de la radioterapia. Los microadenomas tienden a permanecer pequeños y se recomienda vigilancia expectante (Alameda y col., 2010).

El tratamiento de los *adenomas hipofisarios no funcionantes* plantea dos preguntas: cuándo deben tratarse y qué papel desempeña cada tratamiento disponible. El tratamiento activo de los adenomas hipofisarios debe realizarse cuando producen síntomas, tienen contacto con el tracto óptico o han crecido en las pruebas de imagen. El tratamiento es quirúrgico, utilizando radioterapia para casos con remanentes tumorales posquirúrgicos significativos no removibles y para aquellos en los que los estudios histopatológicos muestran características agresivas. El tratamiento médico está reservado para situaciones en las que se hayan agotado los tratamientos quirúrgicos y de radioterapia. El tratamiento quirúrgico más recomendable es endoscópico (Pérez-López y col., 2021).

La *cirugía transesfenoidal* sigue siendo la piedra angular del *tratamiento de los adenomas no funcionantes*. La *radiocirugía* da como resultado una tasa alta de control tumoral, pero con el riesgo de desarrollar *hipopituitarismo*. En pacientes seleccionados sin defectos del campo visual, es posible una evaluación frecuente de los campos visuales, sin el riesgo de comprometer irreversiblemente la función visual. La progresión de estos tumores es difícil de predecir, pero el **MIB-1 LI** es indicativo de invasividad, pero no predice la recurrencia. Hasta la fecha, la contribución potencial de otros marcadores de proliferación aún requiere una mayor validación. La *temozolomida* y la *rapamicina* son posibles dianas terapéuticas, combinadas con *octreótido*. La cirugía, seguida de radioterapia o radiocirugía en caso de remanente o recurrencia, sigue siendo la piedra angular del tratamiento de los adenomas no funcionantes (Pereira y Biermasz, 2012)

Los *adenomas no funcionantes* van desde asintomáticos y, por lo tanto, detectados en la autopsia o como hallazgos incidentales en la RM o TC hasta causar una disfunción hipotalámica/pituitaria signifi-

cativa y compromiso del campo visual debido a su gran tamaño. Los pacientes con adenomas incidentales deben someterse a pruebas de detección de hipersecreción (PRL, IGF-1, cortisol salival) e hipopituitarismo (macroadenomas). En ausencia de hipersecreción, hipopituitarismo o defectos del campo visual, los pacientes pueden ser seguidos por exámenes periódicos de RM para detectar agrandamiento, momento en el cual puede ser necesaria la cirugía. Los pacientes sintomáticos se tratan mediante cirugía transesfenoidal. Las RM posoperatorias se realizan a los 3-4 meses después de la cirugía para evaluar la integridad de la resección y luego se repiten anualmente durante 3-5 años. Para los tumores visibles, la tasa de crecimiento tumoral es de un 40% y puede ser reducida con el uso de agonistas de dopamina y radioterapia (Molitch, 2014).

7. Adenomas agresivos: atípicos y carcinomas pituitarios

La OMS clasifica los tumores hipofisarios como *adenomas típicos, adenomas atípicos y carcinomas hipofisarios*. Los carcinomas hipofisarios tienen metástasis craneoespinales o sistémicas, aunque no todos muestran características citológicas clásicas de malignidad. Los adenomas hipofisarios agresivos tienen recurrencias más tempranas y frecuentes y pueden ser resistentes a los tratamientos convencionales. Aún no se han identificado biomarcadores específicos que puedan distinguir entre adenomas hipofisarios clínicamente agresivos y no agresivos, aunque el índice de proliferación del antígeno Ki-67 podría ser valioso. Es necesario definir la agresividad para mejorar el manejo de los pacientes y la efectividad del tratamiento. Los nuevos fármacos, la *temozolomida* y el *mTOR* son potencialmente útiles en el manejo de pacientes seleccionados, aunque el índice de proliferación del antígeno Ki-67 podría ser valioso (Di Ieva y col., 2014).

La validez de los denominados *tumores atípicos* propuesta el 2004 por WHO es ahora debatible. Raverot y col. (2012 y 2014) proponen llamar al grado tumoral 2b con alto riesgo de recurrencia como *tumor sospechado de malignidad* ya que tiene evidencias clínicas, patológicas y moleculares que sugieren la posibilidad de desarrollar atipia.

Hirohata y col. (2013) demostraron que la *temozolomida* preservó la función de la proteína de reparación de genes (**MSH6**) en las neoplasias malignas de la pituitaria y Jouanneau y col. (2012) evaluaron la eficacia antitumoral del *everolimus* en el carcinoma pituitario resistente a la temozolomida. La detección temprana de un fenotipo agresivo de prolactinoma debe permitir el establecimiento rápido de la estrategia terapéutica óptima asociando cirugía y radioterapia para retrasar o inhibir las metástasis (Zemmoura y col., 2013).

Se requiere terapia multimodal. La resección quirúrgica es el pilar de la terapia inicial en la mayoría de los pacientes. Se suele necesitar más de una intervención quirúrgica, radiación hipofisaria y múltiples tratamientos médicos secuenciales o combinados (*temozolomida* sola o en combinación) o terapia con radionúclidos (Iglesias y col., 2020).

Se propuso la *temozolomida* (TMZ) como una opción terapéutica en tumores hipofisarios *agresivos*. Algunos tumores hipofisarios agresivos fueron resistentes a la terapia convencional. Se informaron 4 casos de somatotropinomas agresivos tratados con TMZ y se observó respuesta a TMZ en 1 de estos 4 pacientes. Los factores predictivos del fracaso de TMZ siguen sin estar claros.

La proteína de reparación del ADN (**MSH6**) contribuyó a la efectividad de temozolomida (TMZ) en adenomas hipofisarios atípicos y carcinomas pituitarios (Hirohata y col., 2013).

Los **microARN (miARN)** han estado involucrados en la patogénesis de diferentes neoplasias, pero su función en la tumorigénesis hipofisaria sigue siendo poco conocida. Las pituitarias pueden formar somatotropinomas agresivos en el contexto de la hiperplasia causada por la haploinsuficiencia de la principal subunidad reguladora de la proteína quinasa (**PRKARIA**). Se identificó una firma de **17 miARN** de tumores hipofisarios formados en el contexto de la hiperplasia, causada en la mitad de los casos por mutaciones **PRKARIA**. La inhibición de la expresión de **miR-26b** y la regulación positiva de **miR-128** suprimieron la capacidad de invasión de las células tumorales pituitarias. Los datos revelaron que la inhi-

bición de **miR-26b** y la sobreexpresión de **miR-128** podrían suprimir el crecimiento del tumor pituitario GH3 en xenoinjertos y tendrían un potencial terapéutico en pacientes con mamosomatotropinomas (Palumbo y col., 2013).

Se comunicó el caso de un paciente masculino de 44 años con un corticotropinoma silencioso agresivo, subtipo 2. Al progresar a carcinoma a pesar de la administración de *temozolomida*, se inició tratamiento *anti-VEGF*. Se realizaron RM, tomografía por emisión de positrones y análisis histopatológico. Después de 10 meses de tratamiento con anti-VEGF (*bevacizumab*) no se observó progresión de la lesión. Se realizó una biopsia y el análisis morfológico mostró lesión celular grave, anomalías vasculares y fibrosis. El tratamiento con bevacizumab ha continuado durante 16 meses adicionales hasta presentarse con estabilización de la enfermedad. Ha sido el primer caso de un carcinoma pituitario tratado con bevacizumab con control de la enfermedad a largo plazo (Ortiz y col., 2012a). La *temozolomida* metila el ADN y tiene efectos antitumorales. La O6-metilguanina-ADN metiltransferasa, una enzima reparadora del ADN, elimina los alquilantes inducidos por la temozolomida, contrarrestando así sus efectos. No se han atribuido complicaciones significativas al tratamiento con temozolomida que resulta eficaz para el tratamiento de la mayoría de los adenomas y carcinomas agresivos. La evidencia indica que existe una correlación inversa entre los niveles de inmunexpresión de O6-metilguanina-ADN metiltransferasa y la respuesta terapéutica (Ortiz y col., 2012b).

Se comunicó un caso poco común de un paciente masculino joven que presentaba un MEN1 con un carcinoma hipofisario secretor de PRL, controlado a largo plazo después de la abstinencia de *temozolomida*. La presentación inicial fue una apoplejía hipofisaria que condujo a la cirugía. Los agonistas de la DA y la radioterapia permitieron controlar la secreción de PRL y el remanente hipofisario. La metástasis apareció 10 años después de la presentación inicial, lo que llevó al diagnóstico de carcinoma hipofisario. En ese momento, los agonistas de la DA no fueron efectivos. Se administró *temozolomida* durante 24 ciclos y permitió la disminución del volumen de la lesión hipofisaria y las metástasis. Actualmente, el paciente sigue en seguimiento y 3 años después de la retirada de la temozolomida, el nivel de PRL y el volumen del tumor hipofisario permanecen controlados sin quimioterapia (Phillippon y col., 2012).

Los carcinomas hipofisarios son poco frecuentes y representan aproximadamente el 0,2% de todos los tumores hipofisarios. Representan un desafío para la práctica clínica tanto en el diagnóstico como en el tratamiento. Pueden presentarse como adenomas hipofisarios típicos, con aparición tardía de signos agresivos, o como tumores agresivos desde el principio. La predicción del comportamiento del tumor hipofisario sigue siendo difícil: el aumento de los índices mitóticos (**Ki-67** y **P53**) podría estar asociado con la agresión tumoral. El tratamiento de los carcinomas hipofisarios y los tumores hipofisarios agresivos incluye: *cirugía, tratamiento médico adyuvante, radioterapia de haz externo y quimioterapia*. Hasta hace poco, el tratamiento de los carcinomas hipofisarios era principalmente paliativo y no parecía aumentar la supervivencia general. Los informes actuales han detallado el uso exitoso de *temozolomida* en el tratamiento de carcinomas hipofisarios y tumores hipofisarios agresivos. El resultado del tratamiento podría depender de la expresión de O (6) -metilguanina-ADN metiltransferasa (**MGMT**), una enzima reparadora del ADN que interfiere con la eficacia del fármaco. Los resultados sugieren que la *temozolomida* debe considerarse un fármaco de gran importancia en el algoritmo terapéutico de los tumores hipofisarios agresivos y los carcinomas hipofisarios (Raverot y col., 2012).

Según la clasificación de tumores hipofisarios de la OMS, solo los tumores con metástasis sistémica deben considerarse *carcinomas*. Los tumores invasores con múltiples recurrencias solo se clasifican como *tumores agresivos o adenomas atípicos*. Se presentaron 2 pacientes varones operados de un *prolactinoma agresivo* con y sin metástasis. En el caso 1, 5 cirugías, 3 irradiaciones, aumento de dosis de *agonistas dopaminérgicos* y ensayos de *temozolomida* y *carboplatino-VP16* no lograron controlar la progresión tumoral y la aparición de metástasis que conducen a la muerte 16 años después del inicio. En el caso 2, basado en el diagnóstico inicial de un adenoma agresivo-invasivo que era resistente a agonistas dopaminérgicos, inicialmente se realizó *irradiación con bisturí gamma* en el remanente intracavernoso. A los 8 años, el

remanente permaneció estabilizado y la PRL plasmática se normalizó con agonista dopaminérgico. Ante la asociación de ciertos signos: clínicos (sexo masculino, hiperprolactinemia resistente a la dopamina), Rx (macro invasivo o tumor gigante en RM) e histopatológicos (angiogénesis, Ki-67 > 3%, p53+, mitosis > 2 por campo con mayor aumento, invasión vascular, regulación positiva de genes relacionados con la invasión y proliferación y pérdida alélica del cromosoma 11) se sugirió agresividad y sospecha de malignidad antes de la aparición de metástasis (Zemmoura y col., 2013).

En síntesis, aunque se han hecho importantes avances en el tratamiento de los tumores pituitarios, no hay una terapia totalmente satisfactoria y, en este contexto, la **terapia génica** aparece como una alternativa promisoriosa para el tratamiento de los adenomas pituitarios.

Referencias

- Abe LA et al. Growth hormone-secreting pituitary adenomas in childhood and adolescence: Features and results of transnasal surgery. *Neurosurgery*, 45 (1999): 1-10.
- Abe T, Lüdecke DK. Effects of preoperative octreotide treatment on different subtypes of 90 GH-secreting pituitary adenomas and outcome in one surgical centre. *Eur J Endocrinol*, 145 (2001): 137-145.
- Ahmed A et al. Desaparición de macroadenoma hipofisario con combinación de tratamiento con ketoconazol y cabergolina: un caso inusual de síndrome de Cushing con hallazgos interesantes. *BMJ* bcr0320126025, 2012.
- Alameda Hernando C et al. Tratamiento de los adenomas hipofisarios clínicamente no funcionantes. *Endocrinol Nutr* 57 (2): 71-81, 2010.
- Alexander JM et al. Clinically nonfunctioning pituitary tumors are monoclonal origin. *J Clin Invest* 1990; 86(1):336-340.
- Andoniadou CL et al. Sox2 (+) stem/progenitor cells in the adult mouse pituitary support organ homeostasis and have tumor-inducing potential. *Cell Stem Cell* 2013; 13(4):433-445.
- Arafah BM, Nasrallah MP. Pituitary tumors: pathophysiology, clinical manifestations and management. *Endocr Relat Cancer* 2001; 8(4):287-305.
- Asa SL, Mete O. A history of pituitary pathology. *Endocr Pathol* 2014; 25(1):6-11.
- Asa SL, Ezzat S. Genomic approaches to problems in pituitary neoplasia. *Endocr Pathol* 2013; 25(3):209-213.
- Asa SL et al. Los adenomas lactotropos pituitarios se desarrollan después de una hiperplasia lactotropa prolongada en ratones con deficiencia del receptor de dopamina D2. *Endocrinology* 140: 5348– 5355, 1999.
- Asa SL, Ezzat S. The cytogenesis and pathogenesis of pituitary adenomas. *Endocr Rev* 1998; 19(6):798-827.
- Balestra L. Trabajo de Especialización Universitaria en Endocrinología: Diagnóstico y tratamiento de adenomas hipofisarios. Cátedra Postgrado de Clínica de la Nutrición y Endocrinología. Facultad de Ciencias Médicas. UNLP. Dirección: Prof. Dra. Cónsole GM, 2003.
- Bartel F et al. MDM2 and its splice variant messenger RNAs: expression in tumors and down-regulation using antisense oligonucleotides. *Mol Cancer Res* 2004; 2(1):29-35.
- Bassetti M et al. Morphological studies on mixed growth hormone (GH)- and prolactin (PRL)-secreting human pituitary adenomas. Coexistence of GH and PRL in the same secretory granule. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62(6):1093-1100.
- Bassetti M et al. Bromocriptine treatment reduces the cell size in human macroprolactinomas: a morphometric study. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58(2):268-273.
- Batisse M et al. Aggressive silent GH pituitary tumor resistant to multiple treatments, including temozolomide. *Cancer Invest* 2013; 31(3):190-196.
- Beckers A et al. Familial isolated pituitary adenomas (FIPA) and the pituitary adenoma predisposition due to mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene. *Endocr Rev* 2013; 34(2):239-277.
- Beda-Maluga K et al. Evaluation of hyperprolactinaemia with the use of the intervals for prolactin after macroforms separation. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65(3):359-364.
- Ben-Jonathan N, Hnasko R: La dopamina como inhibidor de la prolactina (PRL). *Endocr Rev* 22: 724–763, 2001.
- Bertherat J et al. Mutations in regulatory subunit type 1A of cyclic adenosine 5'-monophosphate-dependent protein kinase (PRKAR1A): phenotype analysis in 353 patients and 80 different genotypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 9(6):2085-91.
- Bevan JS et al. Development of an invasive macroprolactinoma: a possible consequence of prolonged oestrogen replacement. Case report. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96(12):1440-44.
- Bottoni A et al. miR-15a and miR-16-1 down regulation in pituitary adenomas. *J Cell Physiol* 2005; 204(1):280-285.

- Burrow GN et al. Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. *N Engl J Med* 1981; 304(3):156-158.
- Butz H et al. Down-regulation of Wee1 kinase by a specific subset of microRNA in human sporadic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(10): E181-191.
- Buurman H, Saeger W. Subclinical adenomas in postmortem pituitaries: classification and correlations to clinical data. *Eur J Endocrinol* 2006; 154(5):753-758.
- Calin GA et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9):2999-3004.
- Cámara Gómez R. Non-functioning pituitary tumors: 2012 update. *Endocrinol Nutr* 2014; 61(3):160-170.
- Cazabat L et al. Silent, but non unseen: multimicrocystic aspect on T2-weighted MRI in silent corticotroph adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81(4):566-572.
- Chahal HS et al. Somatostatin analogs modulate AIP in somatotroph adenomas: the role of the ZAC1 pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(8): E1411-20.
- Chinezu L et al. Expression of somatostatin receptors, SSTR2A and SSTR5, in 108 endocrine pituitary tumors using immunohistochemical detection with new specific monoclonal antibodies. *Hum Pathol* 2014; 45(1):71-77.
- Chinezu L et al. Silent GH pituitary tumor: diagnostic and therapeutic challenges. *Ann Endocrinol (Paris)* 2013; 74(5-6):491-495.
- Cho KR y col. Bromocriptine therapy for the treatment of invasive prolactinoma: the single institute experience. *Brain Res Treat* 2013; 1(2):71-77.
- Christian E et al. Endoscopic endonasal transsphenoidal surgery: implementation of an operative and perioperative checklist. *Neurosurg Focus* 2014; 37(4): E1.
- Colao A et al. Treatment of prolactinomas. *Ann Med* 1998; 30(5):452-459.
- Cooper O, Melmed S. Subclinical hyperfunctioning pituitary adenomas: the silent tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2012; 26(4):447-460.
- Corenblum B et al. Human mixed somatotrophic and lactotrophic pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42(5):857-863.
- Cornelius A et al. Endothelial expression of endocan is strongly associated with tumor progression in pituitary adenoma. *Brain Pathol* 2012; 22(6):757-764.
- Cristina C et al. PTTG expression in different experimental and human prolactinomas in relation to dopaminergic control of lactotropes. *Mol Cancer* 2007; 6:4.
- Crosignani PG et al. Treatment of hyperprolactinemic states with different drugs: a study of bromocriptine, metergoline and lisuride. *Fertil Steril* 1982; 37(1):61-67.
- Cuny T et al. Genetic analysis in young patients with sporadic pituitary macroadenomas: besides AIP don't forget MEN1 genetic analysis. *Eur J Endocrinol* 2013; 168(4):533-541.
- D'Angelo D et al. Altered microRNA expression profile in human pituitary GH adenomas: down-regulation of miRNA targeting HMGA1, HMGA2, and E2F1. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(7): E1128-1138.
- Dalkin A, Marshall JC. Medical therapy of hyperprolactinemia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1989; 18(2):259-268.
- de Lima DS et al. SAGE analysis highlights the putative role of underexpression of ribosomal proteins in GH-secreting pituitary adenomas. *Eur J Endocrinol* 2012; 167(6):759-768.
- Di Ieva A et al. Aggressive pituitary adenomas-diagnosis and emerging treatments. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10(7):423-435.
- Drewet N et al. Apoptosis in the anterior pituitary gland of the rat: studies with estrogen and bromocriptine. *Neuroendocrinology* 1993; 57(1):89-95.
- Dudley KJ et al. Pituitary tumours: all silent on the epigenetics front. *J Mol Endocrinol* 2009; 42(6):461-468.
- Duong CV et al. Quantitative, genome-wide analysis of the DNA methylome in sporadic pituitary adenomas. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19(6):805-816.

- Elson A et al. Effect of treatment modality on the hypothalamic-pituitary function of patients treated with radiation therapy for pituitary adenomas: hypothalamic dose and endocrine outcomes. *Front Oncol* 2014; 4:73.
- Egashira N et al. Expression of FOXL2 in human normal pituitaries and pituitary adenomas. *Mod Pathol* 2011; 24(6):765-773.
- Ezzat S et al. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer* 2004; 101(3):613-619.
- Ezzat S, Asa SL. Mechanisms of disease: the pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2(4):220-230.
- Ezzat S. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *CMAJ* 2003; 169(6):575-581.
- Ezzat S. Epigenetic control in pituitary tumors. *Endocr* 2008; 55(6):951-957.
- Felix IA, Horvath E, Kovacs K. Massive Crooke's hyalinization in corticotroph cell adenomas of the human pituitary. A histological, immunocytological and electron microscopic study of three cases. *Acta Neurochir (Wien)* 1981; 58(3-4):235-243.
- Ferraris J et al. N-terminal prolactin-derived fragments, vaso-inhibins, are proapoptotic and antiproliferative in the anterior pituitary. *PLoS One* 2011; 6(7): E21806.
- Ferraris J et al. Prolactin induces apoptosis of lactotropes in female rodents. *PLoS One* 2014; 9(5): E97383.
- Ferraris J et al. Prolactin receptor antagonism in mouse anterior pituitary: effects on cell turnover and prolactin receptor expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 302(3): E356-364.
- Gadelha MR et al. Genetics of pituitary adenomas. *Front Horm Res* 2013; 41:111-140.
- Gillam MP et al. Advances in the treatment of prolactinomas. *Endocr Rev* 2006; 27(5):485-534.
- Granov AM et al. The results of proton radiosurgery for pituitary endosellar adenomas. *Vopr Onkol* 2013; 59(4):465-469.
- Green AI et al. Extensive experience in the management of macroprolactinomas. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 2014; 81(1):85-92.
- Giometto B et al. Folliculo-stellate cells of human pituitary adenomas: immunohistochemical study of the monocyte/macrophage phenotype expression. *Neuroendocrinology* 1997; 65(1):47-52.
- Guyda H et al. Histologic, ultrastructural and hormonal characterization of a pituitary tumor secreting both hGH and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 36(3):531-547.
- Guzzo MF, Carvalho LR, Bronstein MD. Apoptosis: its role in pituitary development and neoplastic pituitary tissue. *Pituitary* 2014; 17(2):157-162.
- Halberg FE, Sheline GE. Radiotherapy of pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1987; 16(3):667-684.
- Halperin I et al. Treatment of pituitary macroadenomas secreting PRL, HGH or ACTH with long-acting bromocriptine. *J Endocrinol Invest* 1987; 10(3):277-282.
- Heitz PU et al. Immunocytochemistry of pituitary tumors. *J Histochem Cytochem* 1987; 35(9):1005-11.
- Herman V et al. Clonal origin of pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71(6):1427-33.
- Hirohata T et al. DNA mismatch repair protein (MSH6) correlated with the responses of atypical adenomas and pituitary carcinomas to temozolomide: the national cooperative study by Japan Society for hypothalamic and pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(3):1130-1136.
- Horvath E et al. Folliculo-stellate cells of the human pituitary as adult stem cells: examples of their neoplastic potential. *Ultrastruct Pathol* 2010; 34(3):133-139.
- Horvath E et al. Pituitary adenomas producing growth hormone, prolactin, and one or more glycoprotein hormones: a histologic, immunohistochemical, and ultrastructural study of four surgically removed tumors. *Ultrastruct Pathol* 1983; 5(2-3):171-183.
- Horvath E et al. Silent adenoma subtype 3 of the pituitary-immunohistochemical and ultrastructural classification: a review of 29 cases. *Ultrastruct Pathol* 2005; 29(6):511-524.
- Horvath E, Kovacs K. Fine structural cytology of the adenohypophysis in rat and man. *J Electron Microscop Tech* 1988; 8(4):401-432.

- Horvath E, Kovacs K. Gonadotroph adenomas of the human pituitary: sex-related fine structural dichotomy. A histologic, immunocytochemical and electron microscopy study of 30 tumors. *Am J Pathol* 1984; 117(3):429-440.
- Horvath E, Kovacs K. Pathology of growth hormone-producing tumors of the human pituitary. *Semin Diagn Pathol* 1986a; 3(1):18-33.
- Horvath E, Kovacs K. Pathology of prolactin adenomas of the human pituitary. *Semin Diagn Pathol* 1986b; 3(1):4-17.
- Iglesias P et al. Terapia multimodal en tumores hipofisarios agresivos. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)* 67 (7): 469-485, 2020.
- Iwaki T et al. Proliferating potential of folliculo-stellate cells in human pituitary adenomas. Immunohistochemical and electron microscopic analysis. *Acta Neuropathol* 1986; 71(3-4):233-242.
- Jacoby LB et al. Clonal origin of pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1990; 73(5):731-735.
- Jamaluddin FA et al. Importance of screening for macroprolactin in all hyperprolactinemic sera. *Mlays J Pathol* 2013; 35(1):59-63.
- Jarzebowski J, Lloyd R, McKeever P. Type IV collagen immunostaining is a simple, reliable diagnostic tool for distinguishing between adenomatous and normal pituitary glands. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131(6):931-935.
- Jesser J, Schlamp K, Bendszus M. Pituitary gland tumors. *Radiologe* 2014; 54(10):981-988.
- Jiang X, Zhang X. The molecular pathogenesis of pituitary adenomas: an update. *Endocrinol Metabol (Seoul)* 2013; 28(4):245-254.
- Jouanneau E et al. New targeted therapies in pituitary carcinoma resistant to temozolomide. *Pituitary* 2012; 15(1):37-43.
- Kaltsas GA et al. Clinical review: diagnosis and management of pituitary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5):3089-99.
- Kapranos N et al. Morphology, molecular regulation and significance of apoptosis in pituitary adenomas. *Front Horm Res* 2004; 32:217-234.
- Katz MS et al. Thyrotroph cell adenoma of the human pituitary gland associated with primary hypothyroidism: clinical and morphological features. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1980; 95(1):41-48.
- Kjaer I. Sella turcica morphology and the pituitary gland - a new contribution to craniofacial diagnostic based on histology and neuroradiology. *Eur J Orthod*, 2015; 37(1):28-36.
- Klibanski A, Zerbas NT. Diagnosis and management of hormone-secreting pituitary adenomas. *N Engl J Med* 1991; 324(12):822-831.
- Kocijancic K et al. Parlodel LAR in the treatment of macroprolactinomas. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1990; 122(2):272-276.
- Kolesnikova GS et al. Comparative analysis of clinical, hormonal and morphological studies in patients with neuroendocrine ACTH-producing tumours. *Int J Endocrinol* 2013:659232.
- Kopczak A, Renner U, Karl Stalla G. Advances in understanding pituitary tumors. *F1000 Prime Rep* 2014; 6:5.
- Kovacs K and Horvath E. Pathology of growth hormone-producing tumors of human pituitary. *Semin Diagn Pathol* 1986b; 3(1):18-33.
- Kovacs K and Horvath E. Tumors of the pituitary gland. Atlas of Tumor Pathology. Fascicle 21. In: Washington, DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1986a; 1-269.
- Kovacs K et al. Adenoma of the human pituitary producing growth hormone and thyrotropin. A histologic, immunocytologic, and fine-structural study. *Virchows Arch A* 1982; 395(1):59-68.
- Kovacs K et al. Pituitary adenomas associated with elevated blood follicle-stimulating hormone levels. A histologic, immunocytologic and electron microscopy study of two cases. *Fertil Steril* 1978; 29(6):622-628.
- Kovacs K. Editorial: Gamma knife radiosurgery and nonfunctionary pituitary adenomas. *J Neurosurg* 2014, 120(3):645.

- Kovacs K et al. Pituitary corticotroph adenoma in a woman with long-standing Addison's disease: a histologic, immunocytochemical, electron microscopic, and in situ hybridization study. *Endocr Pathol* 1996; 7(1):91-97.
- Kovacs K et al. Silent somatotroph adenomas of the human pituitary. A morphologic study of three cases including immunocytochemistry, electron microscopy, in vitro examination, and in situ hybridization. *Am J Pathol* 1989; 134(2):345-353.
- Lake MG, Krook LS, Cruz SV. Pituitary adenomas: an overview. *Am Fam Physician* 2013; 88(5):319-327.
- Landolt AM et al. Bromocriptine reduces the size of cells in prolactin-secreting pituitary adenomas. *Experientia* 1983; 39(6):625-626.
- Landolt AM, Osterwalder V. Perivascular fibrosis and prolactinomas: is it increased with bromocriptine? *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 58(6):1179-83.
- Lapshina AM et al. Histological and immunohistochemical characteristics of ACTH-secreting tumors. *Arkh Patol* 2013; 75(3):8-13.
- Littley MD et al. Radiation-induced hypopituitarism is dose-dependent. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989; 31(3):363-373.
- Li YL. Immunohistochemical study of folliculo-stellate cells in human adenohypophysis and in pituitary adenomas. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 1990; 19(3):188-190.
- Lin Y et al. Frequent mutations and amplifications of the PIK3CA gene in pituitary tumors. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16(1):301-310.
- Lloyd RV et al. Stem cells and cancer stem-like cells in endocrine tissues. *Endocr Pathol* 2013; 24(1):1-10.
- Lloyd RV. Surgical pathology of pituitary gland. Vol 27. Major problems in Pathology. In: Sanders Company, 1993.
- Luk CT et al. Plurihormonal pituitary adenoma immunoreactive for thyroid-stimulating, growth hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin. *Endocr Pract* 2012; 18(5): e121-126.
- Mc Comb DJ et al. Spontaneous sparsely-granulated prolactin-producing pituitary adenomas in aging rats. A prospective study of the effect of bromocriptine. *Neuroendocrinology* 1985; 41(3):201-211.
- McCutcheon IE et al. Surgical treatment of thyrotropin-secreting pituitary adenomas. *J Neurosurg* 1990; 73(5):674-683.
- Mao ZG et al. Differential expression of microARNs in GH-secreting pituitary adenomas. *Diagn Pathol* 2010; 5:79.
- Marko NF, Coughlan C, Weil RJ. Towards an integrated molecular and clinical strategy to predict early recurrence in surgically resected non-functional pituitary adenomas. *J Clin Neurosci* 2012; 19(11):1535-1540.
- Marko NF, Weil RJ. Pituitary gland: new pathways in the pathogenesis of pituitary adenomas. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8(10):572-573.
- Matano F et al. Endocan, a new invasion and angiogenesis marker of pituitary adenomas. *J Neurooncol* 2014; 117(3):485-491.
- Mathioudakis N et al. Expression of pituitary stem/progenitor marker GFR α 2 in human pituitary adenomas and normal pituitary. *Pituitary* 2015; 18(1):31-41.
- Mc Comb DJ et al. Pituitary adenomas in old Sprague-Dawley rats: a histologic, ultrastructural, and immunocytochemical study. *J Natl Cancer Inst* 1984; 73(5):1143-66.
- Melmed S et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(2):273-288.
- Melmed S et al. Pathophysiology of acromegaly. *Endocr Rev* 1983; 4(3):271-290.
- Melmed S, Kleinberg D. Anterior pituitary. *Textbook of Endocrinology*. In: ed. Kornenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, USA, 2008:115-261.
- Melmed S. Mechanisms of pituitary tumorigenesis: the plastic pituitary. *J Clin Invest* 2003; 112(11):1603-18.
- Melmed S. Pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7(5):257-266.
- Melis GB et al. Reduction in the size of prolactin-producing pituitary tumor after cabergoline administration. *Fert Steril* 1989; 52(3):412-415.

- Mete O, Asa SL. Clinicopathological correlations in pituitary adenomas. *Brain Pathol* 2012; 22(4):443-453.
- Mete O, Asa SL. Therapeutic implications of accurate classification of pituitary adenomas. *Sem Diag Pathol* 2013; 30(3):158-164.
- Mezzomo LC et al. Expression of cell growth negative regulators MEG3 and GADD45 γ is lost in most sporadic human pituitary adenomas. *Pituitary* 2012; 15(3):420-427.
- Miyazaki H et al. Folliculo-stellate cells in normal adenohypophyses and in pituitary adenomas. *No Shunkei Geka* 1988; 16(6):713-719.
- Molitch ME et al. Bromocriptine as primary therapy for prolactin-secreting macroadenomas: results of a multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60(4):698-705.
- Molitch ME et al. Management of prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(4):996-1000.
- Molitch ME. Management of prolactinomas. *Annu Rev Med* 1989; 40: 225-232.
- Molitch ME. Medical treatment of prolactinomas. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28(1):143-169.
- Molitch ME. Nonfunctioning pituitary tumors. *Handb Clin Neurol* 2014; 124:167-184.
- Monson JP. Growth hormone (GH) replacement therapy: cancer in adults treated with GH. *Growth Horm IGF Res* 2000; 10(Suppl A): S50-51.
- Mukai K. Pituitary adenomas. Immunocytochemical study of 150 tumors with clinicopathologic correlation. *Cancer* 1983; 52(4):648-653.
- Musat M et al. Enhanced protein kinase B/Akt signaling in pituitary tumours. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(2):423-433.
- Neuman PE et al. Cytoplasmic filaments of Crooke's hyaline change belong to the cytokeratin class. An immunocytochemical and ultrastructural study. *Am J Pathol* 1984; 116(2):214-222.
- Neuman PE et al. Fibrous bodies in growth hormone-secreting adenomas contain cytokeratin filaments. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109(6):505-508.
- Newman GR et al. Multiple hormone storage by cells of the human pituitary. *J Histochem Cytochem* 1989; 37(8):1183-92.
- Nilsson B et al. Adenomas hipofisarios en Suecia entre 1958 y 1991: incidencia, supervivencia y mortalidad. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(4):1420-1425.
- Ortiz LD et al. Anti-VEGF therapy in pituitary carcinoma. *Pituitary* 2012a; 15(3):445-449.
- Ortiz LD et al. Temozolomide in aggressive pituitary adenomas and carcinomas. *Clinics (Sao Paulo)* 2012b; 67(Suppl1):119-123.
- Palmieri D et al. Downregulation of HMGA-targeting microRNAs has a critical role in human pituitary tumorigenesis. *Oncogene* 2012; 31(34):3847-3865.
- Palumbo T et al. El análisis de pantalla funcional revela que miR-26b y miR-128 son reguladores centrales del crecimiento de tumores somatomamotróficos hipofisarios a través de la activación de la vía PTEN-AKT. *Oncogene* 32: 1651– 1659, 2013.
- Pease M et al. The role of epigenetic modification in tumorigenesis and progression of pituitary adenomas: a systematic review of the literature. *PLoS One* 2013; 8(12):82619.
- Pellegrini I et al. Resistance to bromocriptine in prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69(3):500-509.
- Pereira AM, Biermasz NR. Treatment of nonfunctioning pituitary adenomas: what were the contributions of the last 10 years? A critical view. *Ann Endocrinol (Paris)* 2012; 73(2):111-116.
- Pérez-López C et al. Abordaje terapéutico de los adenomas hipofisarios no funcionantes. *Med Clin (Barc)* 156 (6): 284-289, 2021.
- Phillippon M et al. Long-term control of a MEN1 prolactin secreting pituitary carcinoma after temozolomide treatment. *Ann Endocrinol (Paris)* 2012; 73(3):225-229.
- Rasul FT et al. Plurihormonal pituitary adenoma with concomitant adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and growth hormone (GH) secretion: a report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochir (Wien)* 2014; 156(1):141-146.
- Raverot G et al. Management of endocrine disease: clinicopathological classification and molecular markers of pituitary tumours for personalized therapeutic strategies. *Eur J Endocrinol* 2014; 170(4):R121-132.

- Raverot G et al. Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumours: merits and pitfalls of temozolomide treatment. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 2012; 76(6):769-775.
- Righi A et al. Galectin-3 expression in pituitary adenomas as a marker of aggressive behavior. *Hum Pathol* 2013; 44(11):2400-09.
- Robert F et al. Mixed growth hormone and prolactin-secreting human pituitary adenomas: a pathologic, immuno-cytochemical, ultrastructural and immunoelectron microscopic study. *Hum Pathol* 1988; 19(11):1327-34.
- Roelfsema F, Biermasz NR, Pereira AM. Clinical factors involved in the recurrence of pituitary adenomas after surgical remission: a structured review and meta-analysis. *Pituitary* 2012; 15(1):71-83.
- Roussel-Gervais A et al. Cooperation between cyclin E and p27 (Kip1) in pituitary tumorigenesis. *Mol Endocrinol* 2010; 24(9):1835-45.
- Saeger W, Ludecke DK. Pituitary adenomas with hyperfunction of TSH. Frequency, histological classification, immunocytochemistry and ultrastructure. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1982; 394(3):255-267.
- Sahli R et al. Clinicopathologic correlations of silent corticotroph adenomas of the pituitary: report of four cases and literature review. *Pathol Res Pract* 2006; 202(6):457-464.
- Salehi F et al. Biomarkers of pituitary neoplasms: a review (Part II). *Neurosurgery* 2010; 67(6): 1790-1798.
- Salehi F et al. Plurihormonality in pituitary adenomas associated with acromegaly. *Endocr Pathol* 2006; 17(3):291-296.
- Sano T, Kovacs K, Asa SL, Smyth HS. Immunoreactive luteinizing hormone in functioning corticotroph adenomas of the pituitary. Immunohistochemical and tissue culture studies of two cases. *Virchows Arch A* 1990; 417(4):361-367.
- Salazar-López Ortiz CG et al. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la hiperprolactinemia. *Ginecol Obstet Mex* 2014; 82(2):123-142.
- Sano T: Uso de inmunohistoquímica ultraestructural en patología hipofisaria humana. *Microsc Res Tech* 20: 152-161, 1992.
- Sav A et al. Biomarkers of pituitary neoplasms. *Anticancer Res* 2012; 32(11):4639-54.
- Shimon I, Melmed S. Management of pituitary tumors. *Ann Intern Med* 1998; 129(6):472-483.
- Sudhakar N et al. Complications after trans-sphenoidal surgery: our experience and a review of the literature. *Br J Neurosurg* 2004; 18(5):507-512.
- Scangas GA, Laws ER. Pituitary incidentalomas. *Pituitary* 2014; 17(5):486-491.
- Serri O, Chik CL, Ur E, Ezzat S. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *CMAJ* 2003; 169(6):575-581.
- Shi Z, Johnson JJ, Stack MS. Fluorescence in situ hybridization for microRNA detection in archived oral cancer tissues. *J Oncol* 2012; 903581.
- Smallridge RC. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1987; 16(3):765-792.
- Somm E et al. Comparative inhibition of the GH/IGF-I axis obtained with either the targeted secretion inhibitor SXN101959 or the somatostatin analog octreotide in growing male rats. *Endocrinology* 2013; 154(11):4237-48.
- Teramoto A et al. Lesiones hipofisarias incidentales en 1.000 muestras de autopsia no seleccionadas. *Radiology* 193: 161-164, 1994.
- Tirosh A et al. Hypopituitarism patterns and prevalence among men with macroprolactinomas. *Pituitary* 2015; 18(1):108-115.
- Tong Y et al. Melmed S. Genomic characterization of human and rat prolactinomas. *Endocrinology* 2012; 153(8): 3679-91.
- Trivellin G et al. MicroRNA miR-107 is overexpressed in pituitary adenomas and inhibits the expression of aryl hydrocarbon receptor-interacting protein in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 303(6):E708-719.

- Trouillas J et al. Human pituitary gonadotropic adenoma: histological, immuno-cytochemical, and ultra-structural and hormonal studies in eight cases. *J Pathol* 1981; 135(4):315-336.
- Trouillas J et al. Morphological and biochemical relationships in 31 human pituitary adenomas with acromegaly. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1980; 389(2):127-142.
- Trouillas J. A search of a prognostic classification of endocrine tumors. *Endocr Pathol* 2014; 25(2):124-132.
- Vajtai I et al. Folliculo-stellate cells of “true dendritic” type are involved in the inflammatory microenvironment of tumor immunosurveillance of pituitary adenomas. *Diagn Pathol* 2007; 2:20.
- Vance ML et al. Follicle-stimulating hormone- and alpha-subunit-secreting pituitary tumor treated with bromocriptine. *J Clin Endocrinol Metab* 1985, 61(3):580-584.
- Vandeva S et al. The genetics of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010; 24(3):461-476.
- Velkeniers B, Hooghe-Peters EL. From prolactin cell to prolactinoma: implications of ontogenic mechanisms in diagnosis and management. *Endocrine-Related Cancer* 1998; 5:27-36.
- Vilar L, Fleseriu M, Bronstein MD. Challenges and pitfalls in the diagnosis of hyperprolactinemia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014; 58(1): 9-22.
- Vos BP et al. Response of luteinizing hormone secreting pituitary adenoma to a long-acting somatostatin analogue. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1988; 118(4):587-590.
- Wade AN et al. Clinically silent somatotroph adenomas are common. *Eur J Endocrinol* 2011; 165(1):39-44.
- Webster J et al. A comparison of cabergoline and bromocriptine in the treatment of hyperprolactinemic amenorrhea. Cabergoline comparative study group. *N Engl J Med* 1994; 331(14):904-909.
- Weiss S et al. Evidence for a progenitor cell population in the human pituitary. *Clin Neuropathol* 2009; 28(4): 309-318.
- Wemeau JL et al. Long term treatment with the somatostatin analog SMS 201-995 in a patient with a thyrotropin- and growth hormone-secreting pituitary adenoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66(3):636-639.
- Wierinckx A et al. Proliferation markers of human pituitary tumors: contribution of a genome-wide transcriptome approach. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 326(1-2):30-39.
- Xu Y et al. CUL4A is overexpressed in human pituitary adenomas and regulates pituitary tumor cell proliferation. *J Neurooncol* 2014; 116(3):625-632.
- Yamada S et al. Clinicopathological characteristics and therapeutic outcomes in thyrotropin-secreting pituitary adenomas: a single-center study of 90 cases. *J Neurosurg* 2014; 19:1-12.
- Yu R, Melmed S. Pituitary tumor transforming gene: an update. *Front Horm Res* 2004; 32:175-185.
- Zemmoura I et al. Aggressive and malignant prolactin pituitary tumors: pathological diagnosis and patient management. *Pituitary* 2013; 16(4):515-522.
- Zhang X et al. Transcriptional regulation of the human glycoprotein hormone common alpha subunit gene by cAMP-response-element-binding protein (CREB)-binding protein (CBP)/p300 and p53. *Biochem J* 2002; 368(Pt 1):191-201.
- Zhang X, Zhou Y, Klibanski A. Isolation and characterization of novel pituitary tumor related genes: a cDNA representational difference approach. *Mol cell Endocrinol* 2010; 326(1-2):40-47.
- Zhou Y et al. MicroRNA-133 inhibits cell proliferation, migration and invasion by targeting epidermal growth factor receptor and its downstream effector proteins in bladder cancer. *Scand J Urol* 2013; 47(5):423-432.
- Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. Genetic and epigenetic mutations of tumor suppressive genes in sporadic pituitary adenoma. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 386(1-2):16-33.

CAPÍTULO 17

CLÍNICA Y TRATAMIENTO DE OTRAS ENDOCRINOPATÍAS

17.1 Gigantismo - acromegalia

La *acromegalia* y el *gigantismo* se deben a la producción excesiva de GH, generalmente por un adenoma hipofisario. Son enfermedades poco frecuentes. El diagnóstico se realiza ante un paciente con un cuadro clínico sugerente y la demostración de concentraciones de **GH** e **IGF-I** elevadas. Tras la confirmación bioquímica del exceso de GH debe realizarse una RM del área hipotálamo-hipofisaria a fin de confirmar el origen del exceso de **GH**. El diagnóstico se ve precedido de forma invariable por unos 10 años de enfermedad desconocida. Los somatotropinomas son de origen monoclonal y se desarrollan a partir de cambios genéticos. GHRH y somatostatina hipotalámicas y factores de crecimiento, facilitan la expansión de las somatotropas tumorales (Melmed, 2009).

Si el aumento de GH ocurre en la niñez o adolescencia, cuando aún existe cartílago de crecimiento activo, se produce **gigantismo**; pero si la hiperfunción de GH se presenta en la edad adulta, aparece un cuadro de **acromegalia**. Un estado intermedio entre ambos se puede manifestar en los jóvenes con edades próximas al cierre de los cartílagos de crecimiento en el que los afectados muestran signos de las dos entidades y se denomina **acrogigantismo**.

17.1.1 Gigantismo (fig. 17.1)



Fig. 17.1 Gigantismo (Edesa).

Se señala la importancia de la detección a edades tempranas de esta enfermedad, pues la misma acorta la esperanza de vida, aumenta la mortalidad al doble o triple, no solo por la hipersecreción hormonal, sino también por la compresión por efecto de masa. El tratamiento quirúrgico oportuno puede detener el crecimiento desproporcionado y evitar las complicaciones y la muerte que se produce a causa de enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus e hipertensión arterial. El gigantismo se asocia con un notable incremento de la morbilidad asociado a artrosis, artralgias y a nivel de los miembros con invalidez física seguida de postración (Wilches y col., 2009).

La GH tiene efectos profundos sobre el crecimiento y la diferenciación celular en diversos tipos de tejidos. La hiposecreción en los niños produce *enanismo*, mientras que la hipersecreción produce *gigantismo/acromegalia*. El antagonista compite con la GH endógena por el receptor y da como resultado la supresión del IGF-1 (Kohn y Kopchick, 1995).

El exceso de GH circulante es la responsable fisiopatológica del crecimiento desproporcionado de los miembros, la acción antiinsulínica de la GH en general no es muy evidente en los pacientes con gigantismo debido a la reserva insular aumentada y a la potencial hiperplasia de los islotes pancreáticos existentes en edades tempranas y que produce un hiperinsulinismo que contrarrestan los efectos diabéticos del exceso de GH. La discreta hiperprolactinemia que se presenta en estos pacientes ejerce un efecto inhibitorio sobre la secreción de gonadotropinas que produce disminución de la libido, impotencia y afectación de la función testicular (Corrado y col., 2014).

El **gigantismo hipofisario** puede deberse a un adenoma hipofisario, síndrome de McCune-Albright, adenomatosis endocrina múltiple (MEN-1), adenomas ectópicos (cavidad nasal-esfenoidea) y exceso de GHRH (gangliocitomas intracraneales, tumores extracraneales (carcinoide, pancreático, adenomas bronquiales, etc.) (Argente y Sotos, 2019).

Diagnóstico

- **Determinación de los niveles séricos de IGF-I e IGF-II:** descarta cuadros clínicos de hipersecreción de GH.

Clínica

Es considerada una enfermedad rara y crónica causada por la sobreproducción de GH provocada en el 99% de los casos por un somatotropinoma. En una amplia serie de 2.367 niños y adolescentes con adenomas hipofisarios, solo el 0,6% presentaban gigantismo (Abe y col., 1999).

Tratamiento

- Cirugía transesfenoidal: extirpación del adenoma (de elección) (Abe y col., 1999).
 - Radioterapia hipofisaria: si la secreción de GH no se normaliza luego de la cirugía.
 - Tratamiento farmacológico: *octreótida* o *bromocriptina* o ambos.
- Nuevo tratamiento: *pegvisomant*: antagonista del receptor de GH.

17.1.2 Acromegalia

Es una enfermedad crónica multisistémica y de baja prevalencia. Es una enfermedad subdiagnosticada que evoluciona con una elevada tasa de mortalidad por causas cardiovasculares y cerebrovasculares. La acromegalia se caracteriza por una mayor liberación de **GH** y del factor de crecimiento insulino similar (**IGF1**), con mayor frecuencia por un somatotropinoma y en menos de 5% de los casos ocurre en forma hereditaria y en el gigantismo es raro. Aunque se considera una enfermedad rara, estudios recientes han informado de una mayor incidencia de acromegalia debido a una mejor conciencia de la enfermedad, mejores herramientas de diagnóstico y un aumento real de la prevalencia (Colao y col., 2019).

El diagnóstico de acromegalia todavía se hace muy tarde en un número importante de pacientes cuando la enfermedad ya se encuentra en estadios avanzados. Los resultados refuerzan la importancia

de acortar el período de latencia entre el inicio de la enfermedad, diagnóstico y tratamiento para mejorar los resultados de los pacientes.

Se enfatiza que la acromegalia debe presentarse como una enfermedad insidiosa esporádica, en lugar de rara, lo que significa que existe una posibilidad considerable de que los profesionales de la salud vean a un paciente con acromegalia a lo largo de su carrera. El lema *debes saberlo para pensar en ello*, da como resultado tasas más bajas de morbi-mortalidad y podría tener un impacto positivo en los costos de atención médica (Boguszewski, 2020) (figs. 17.2-17.3).

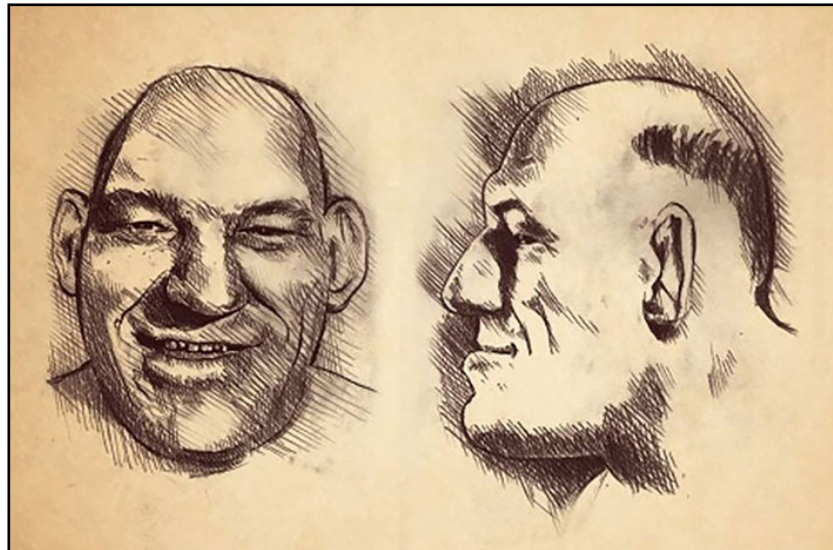


Fig. 17.2 Acromegalia (Slideshare).

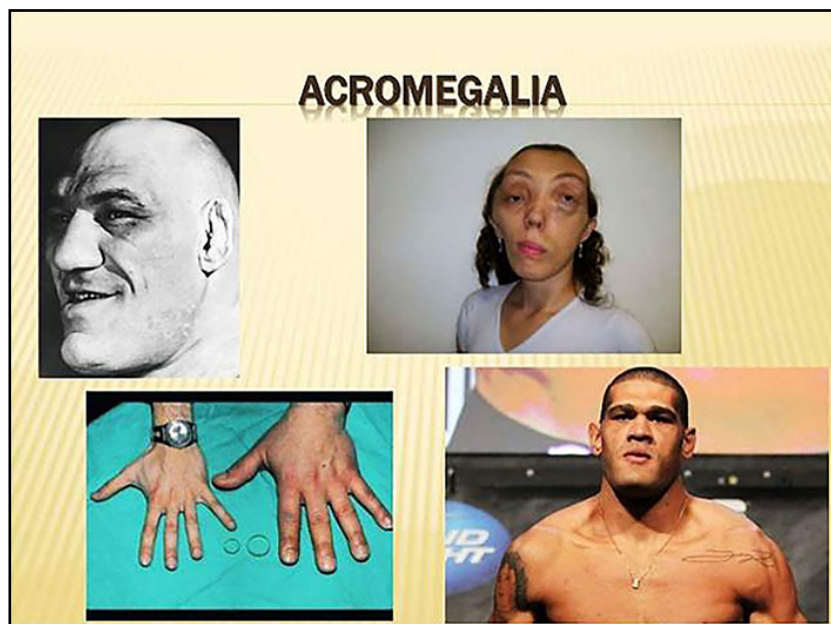


Fig. 17.3 Acromegalia (Slideshare).

- Epidemiología

Existen alrededor de 6.000 enfermedades raras, la mayoría de ellas de origen genético (~ 80%). Desde el punto de vista epidemiológico, se ha dicho que la acromegalia tiene una prevalencia estimada de 40 a 70 por millón en la población general (Chanson y Salenave, 2008; Ben-Shlomo y col., 2011), con una incidencia anual de 3 a 4 nuevos casos por millón de habitantes (Holdaway y Rajasoorya, 1999).

Algunos países han desarrollado registros de acromegalia y extrapolado de ellos la prevalencia del trastorno. De hecho, ese trabajo se ha realizado en países europeos como España, Alemania, Bélgica, Italia y Dinamarca (Mestrón y col., 2004; Reincke y col., 2006; Bex y col., 2007; Arosio y col. 2012; Dal y col., 2014). Un análisis de Lavrentaki y col. (2017) sugiere que la prevalencia e incidencia de esta condición es de 2.8-13.7 casos por 100.000 personas y 0.2-1.1 casos/100.000 personas/año, respectivamente. Esto refleja un subdiagnóstico de acromegalia, ya que esas cifras dependen de los casos declarados y no de una búsqueda sistemática de la enfermedad. Por otro lado, se demostró que los adenomas hipofisarios pueden ser más frecuentes de lo que se pensaba, incluyendo una prevalencia de acromegalia de alrededor de 100-130 casos por millón de habitantes (Daly y col., 2006). Un cribado sistemático de acromegalia mediante determinaciones de IGF-1 realizadas en el nivel de atención primaria encontró una prevalencia de acromegalia bioquímica aún mayor (1.043 por millón) (Schneider y col., 2008).

En la **fig. 17.4** se presenta la síntesis y secreción de GH que permite la síntesis proteica y resulta fundamental para el crecimiento óseo y de tejidos blandos. La GH es estimulada por la hormona liberadora de GH (GHRH), siendo sintetizada y secretada por las somatotropas hipofisarias.

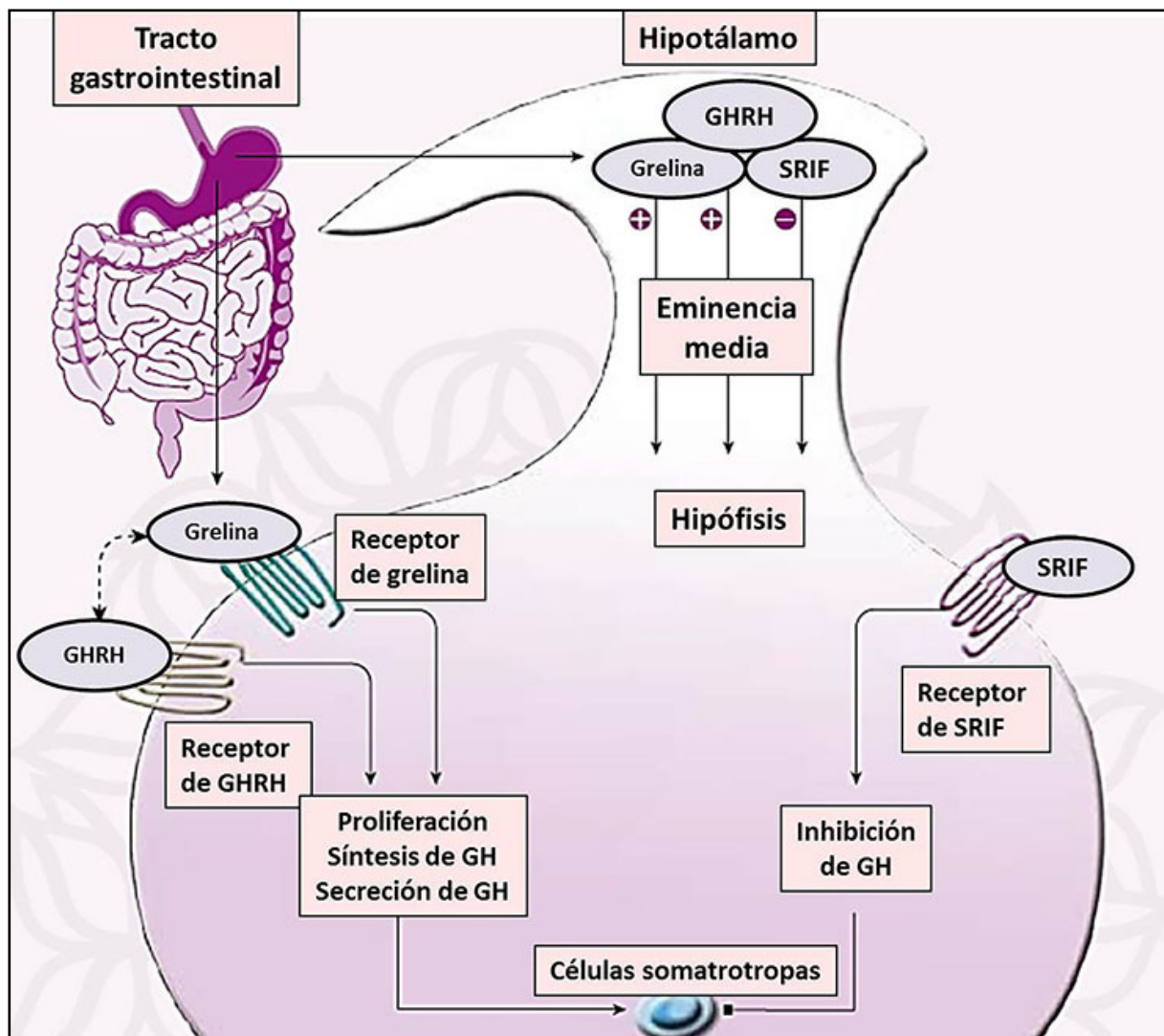


Fig. 17.4 Síntesis y secreción de GH (Slideshare).

- Causas de la acromegalia:

A. Exceso de secreción de GH (98 %).

- Tumores hipofisarios: somatotropinoma, adenoma mixto (GH/PRL), adenoma plurihormonal.

- Tumores hipofisarios ectópicos: seno esfenoidal o espacio parafaríngeo.
- Tumores extrahipofisarios (páncreas, ovario, mama y pulmón).

B. Exceso de producción de GHRH (menos de 1 %)

- Tumor hipotalámico: hamartoma y coristoma.
- Tumor extrahipotalámico: tumor carcinóide, tumor de islotes pancreáticos, carcinoma medular de tiroides.
- Otros tumores: feocromocitoma, carcinoma de oat cells del pulmón, adenoma adrenal, carcinoma endometrial y de mama.

C. Síndromes hereditarios en la acromegalia.

- Síndrome de McCune-Albright.
- Neoplasia endocrina múltiple de tipo I (MEN 1).
- Acromegalia familiar.
- Síndrome de Carney.

La acromegalia afecta por igual a hombres y mujeres y la edad promedio en el momento del diagnóstico varía de 40 a 50 años. Debido al inicio insidioso y la progresión lenta, la acromegalia a menudo se diagnostica de cinco a más de diez años después de su inicio. El engrosamiento típico de los rasgos faciales incluye el surco de la frente, la protrusión pronunciada de las cejas, el agrandamiento de la nariz y las orejas, el engrosamiento de los labios, las arrugas de la piel y los pliegues nasolabiales, así como el prognatismo mandibular que conduce a la maloclusión dental y al aumento del espaciamiento interdental. El crecimiento excesivo de manos y pies con hinchazón de los tejidos blandos está presente en la gran mayoría de los pacientes con acromegalia. Menos del 15% de los pacientes con acromegalia buscan atención médica por cambios en la apariencia o agrandamiento de las extremidades. La presentación de la acromegalia se relaciona más a menudo con sus comorbilidades sistémicas o con efectos tumorales locales. Las manifestaciones clínicas en cada paciente dependen de: concentraciones de GH e IGF-I, edad, tamaño del tumor y retraso en el diagnóstico (Cordero y Barkan, 2008; Wassenaar y col., 2011).

Es una enfermedad poco frecuente y la mala interpretación de los síntomas puede ocultar el diagnóstico de acromegalia, ya que los pacientes consultan por diversos motivos a otros especialistas que desconocen esta posibilidad, lo que conduce a un diagnóstico erróneo y a un tratamiento retrasado. La acromegalia es una condición discapacitante: la calidad de vida del paciente se ve afectada por los aspectos crónicos, progresivos y potencialmente mortales. Se demostró que la curva de supervivencia de las personas acromegálicas no tratadas que presentan niveles elevados de **GH** y/o **IGF-1** es significativamente peor que en la población general (Holdaway y col., 2004).

Se comunicó un estudio morfológico de los adenomas hipofisarios extraídos de 13 pacientes acromegálicos (PRL normal y aumentada) Se hizo doble marcación inmunocitoquímica (microscopía electrónica) con partículas de oro para detectar la presencia de GH y PRL. Concluyeron que 1) la frecuencia de mammosomatotropas en adenomas de pacientes acromegálicos es mayor que la estimada previamente usando diferentes métodos inmunocitoquímicos y 2) las respuestas de GH en suero a TRH y dopamina no están estrictamente relacionadas con la presencia de mammosomatotropas y/o lactotropas dentro del tumor. Se encontró una correlación positiva entre los niveles séricos de PRL y el porcentaje de mammosomatotropas. No se encontraron diferencias significativas en las respuestas secretoras de GH a TRH, dopamina, GHRH y SRIH entre pacientes que tenían tumores con o sin células PRL+ (Bassetti y col., 1988).

- Patogenia de la acromegalia

Existe un exceso primario de GH, exceso extrahipofisario de GH y exceso de GHRH (fig. 17.5).

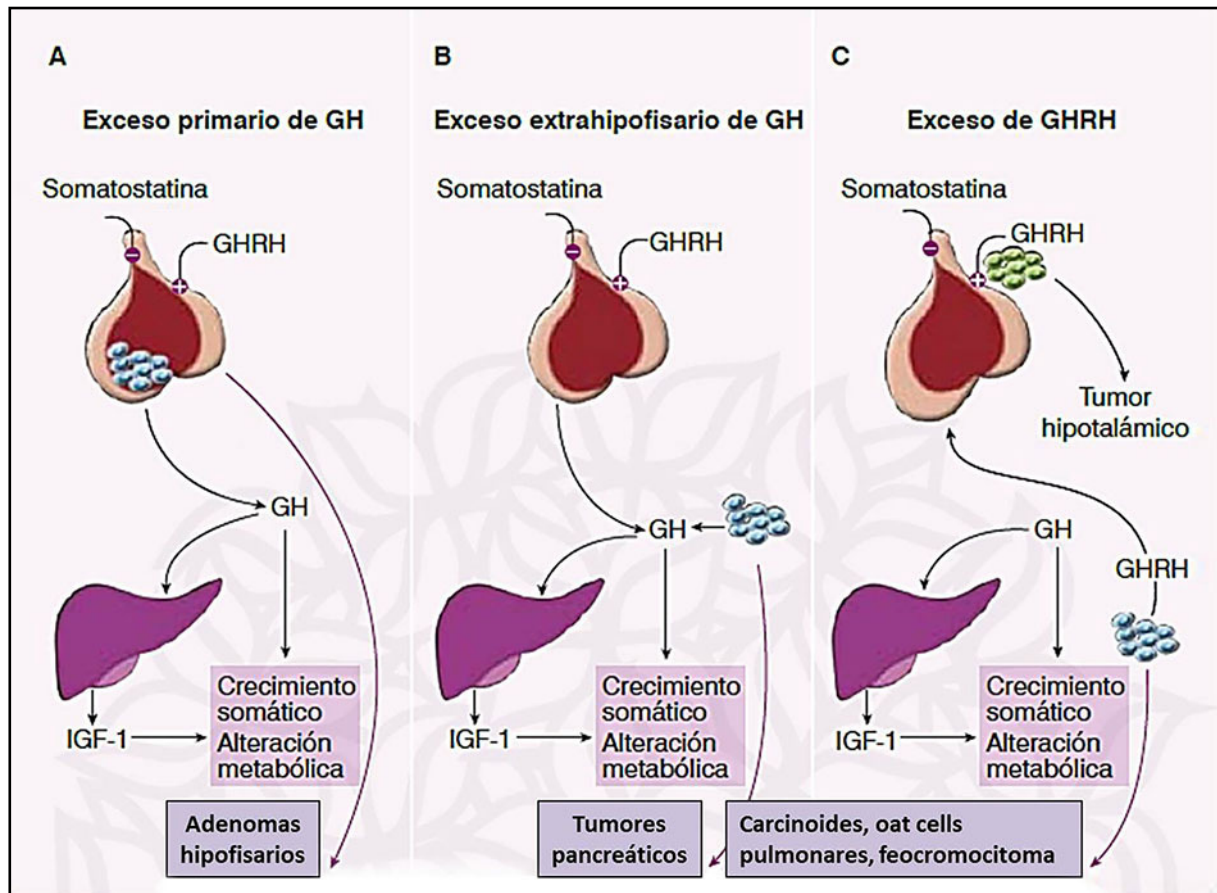


Fig. 17.5 Patogenia de la acromegalia (Elsevier).

- Clínica de la acromegalia

Los síntomas/signos de la acromegalia pueden deberse a la masa tumoral así como a la secreción excesiva de hormonas.

Manifestaciones clínicas (Molitch, 1992; Sata y Ho, 2007, Cordero y Barkan, 2008).

a. Efecto compresivo del adenoma hipofisario:

- Cefalea.
- Defectos campimétricos; afectación de la vía óptica con una cuadrantanopsia o hemianopsia bitemporal.
- Hiperprolactinemia.
- Compresión del tallo pituitario.
- Hipopituitarismo.
- Hipotiroidismo, hipogonadismo, hipocortisolismo.

b. Efectos sistémicos del exceso de GH/IGF-1.

- Visceromegalias.
- Crecimiento acral.
- Nariz ensanchada.
- Cambios cutáneos y de partes blandas.

- Hiperhidrosis.
- Papilomas cutáneos y acantosis nigricans.
- c. Manifestaciones cardiovasculares.**
 - Hipertrofia biventricular.
 - Insuficiencia cardíaca congestiva.
 - Enfermedad coronaria.
 - Arritmias.
 - Hipertensión arterial.
 - Miocardiopatía.
- d. Manifestaciones metabólicas.**
 - Intolerancia a la glucosa.
 - Diabetes mellitus.
- e. Manifestaciones respiratorias.**
 - Macroglosia con maloclusión de la mandíbula.
 - Obstrucción de la vía aérea superior.
 - Apnea del sueño.
 - Ventilación alterada.
- f. Manifestaciones óseas y articulares.**
 - Aumento del grosor del cartílago articular.
 - Artralgias y artritis.
 - Síndrome del túnel carpiano.
 - Osteopenia.
- g. Otras manifestaciones endocrinas.**
 - Bocio.
 - Hipercalciuria.
 - Galactorrea.
 - Descenso de la libido. Irregularidades menstruales.

Morbilidades asociadas (Vilar y col., 2017).

- Diabetes mellitus.
- Alteraciones cardiovasculares: alteraciones ecocardiográficas (aumento del VI, miocardiopatía acromegálica, disfunción diastólica con descenso de la fracción de eyección) e hipertensión arterial (Colao y col., 2004).
- Manifestaciones reumatológicas.
- Alteraciones respiratorias, neoplásicas, neurológicas y metabólicas

- Diagnóstico de la acromegalia

El diagnóstico de acromegalia requiere la demostración de concentraciones elevadas de GH e IGF-I. En la acromegalia las concentraciones de GH están tónicamente elevadas, por tanto, un valor al azar de GH inferior a 0,04µg/l excluye su diagnóstico, pero un valor al azar elevado no implica su presencia.

- Diagnóstico bioquímico:

El diagnóstico bioquímico del exceso de GH se logra mediante la medición combinada de la concentración basal de IGF-I en suero y la respuesta de GH en una prueba de tolerancia oral a la glucosa. Varios inconvenientes en la interpretación de las pruebas bioquímicas que incluyen la medición de GH han sido descritos. Muchos factores pueden influir en la medición o interpretación del IGF-I y limitar su valor como marcador biológico de la actividad de la enfermedad. Los principales inconvenientes de las mediciones de IGF-I se derivan tanto de su propia fisiología, de las divergencias en los resultados obtenidos de los diferentes métodos bioquímicos utilizados, de las formas heterogéneas de expresar los

resultados obtenidos y de la falta de uniformidad de los puntos de corte para definir la efectividad del tratamiento. Todas estas cuestiones dificultan la comparación de los resultados obtenidos por diferentes autores (Granada, 2019).

Se estudiaron 50 pacientes con exceso de GH (48 con acromegalia del adulto y 2 con gigantismo). Se registró aumento de GH desinhibida por la glucosa y/o hiperfosfemia e hiperhidroxiprolinuria. No se detectó hipercalcemia. La fosfatemia se incrementó en el 55,8%, las fosfatasas alcalinas en el 61,7%, la calciuria en el 26,9% y la hidroxiprolinuria en el 74,2% de los pacientes (Pumarino y col., 1991).

- **GH sérica basal:** tiene poco valor diagnóstico, pues no se diferencia entre los sujetos normales y pacientes con acromegalia. Las cifras superiores a 50 ng/mL establecen el diagnóstico.

- **IGF-I sérica:** se considera una de las pruebas más importantes en el estudio de la acromegalia, por la constancia de sus concentraciones plasmáticas, frente a la variabilidad de la hormona de crecimiento, donde es suficiente una determinación basal, sin necesidad de practicar estímulos ni supresiones.

El diagnóstico bioquímico de la acromegalia se basa en la medición del IGF-1 y la GH. Un nivel elevado de IGF-1 por encima del rango normal específico para la edad y el sexo y la no supresión de la carga de GH a la glucosa oral hasta un nadir $<0,4$ ng/ml en ensayos sensibles se consideran actualmente diagnósticos de acromegalia. La falta de datos normativos para IGF-1 y GH en una amplia gama de poblaciones y etnias, la variabilidad del laboratorio entre ensayos e intraensayos, la pulsatilidad de la secreción de GH y los efectos de los medicamentos y las hormonas pueden confundir la interpretación de estas pruebas bioquímicas (Kannan y Kennedy, 2013).

Se midieron las concentraciones séricas de IGF1 (somatomedina-C) mediante RIA en 57 pacientes con acromegalia. La concentración media de somatomedina-C en ayunas fue de 6,8 U/ml (rango, 2,6 a 21,7) para los acromegálicos y 0,67 U/ml (rango, 0,31 a 1,4) para 48 adultos normales en ayunas. La concentración de somatomedina-C se correlacionó significativamente con: glucosa en ayunas y glucosa posprandial de una hora. Por el contrario, la GH con "supresión de glucosa" se correlacionó débilmente con estos índices. Los niveles de GH en ayunas no mostraron correlación. Cinco acromegálicos activos tenían niveles de hormona del crecimiento "normales" después de la supresión de glucosa, pero tenían somatomedina-C elevada. En 15 pacientes estudiados un año después del tratamiento, los cambios en las concentraciones de somatomedina-C fueron paralelos al grado de mejoría clínica. La medición de la somatomedina-C parece proporcionar un medio confiable para confirmar el diagnóstico de *acromegalia* respecto a las concentraciones de GH (Clemmons y col., 1979).

Se recomienda tener valores propios, ajustados por edad y sexo para cada laboratorio. En la acromegalia, el **IGF-I** se correlaciona bien con la actividad de la GH y el nadir de la GH en la prueba de tolerancia oral a la glucosa (**OGTT**) y es la prueba más sensible y específica en el diagnóstico, donde se observa que el IGF-I sérico se eleva de manera persistente a un rango que es distinto de que en individuos sanos. Sin embargo, no debe confiarse exclusivamente en el diagnóstico ni utilizarse como la única indicación de la gravedad de la enfermedad y la carga de GH. El sexo, la edad y la radioterapia previa alteran la relación entre GH/IGF-I y la dependencia de un marcador de la actividad de la enfermedad como el IGF-I es pobre en ciertos estados patológicos. Sin embargo, se ha demostrado que un IGF-I elevado en suero se asocia con un exceso de mortalidad y la normalización del IGF-I mejora la mortalidad, lo que lo convierte en un marcador útil. Esto se vuelve importante cuando se usa *pegvisomant*, donde IGF-I se convierte en el único marcador bioquímico de la actividad de la enfermedad (Brooke y Drake, 2007).

La determinación de las concentraciones de **IGF-I** en ayunas y de **GH** antes y después de la sobrecarga oral de glucosa (**SOG**) con 75g. El diagnóstico se complica en ocasiones por las variaciones fisiológicas de la GH y por la ausencia de uniformidad de los ensayos para su determinación. Los nuevos inmunoanálisis basados en anticuerpos monoclonales son más sensibles, pero presentan importantes problemas de reproducibilidad (Pokrajac y col., 2007).

- **Prueba de sobrecarga de glucosa (OGTT):** la prueba más confiable es la respuesta de GH a la glucosa oral. En personas normales se reduce la GH plasmática por debajo de 2 mcg/L (4 ng/mL). En los pacientes acromegálicos no disminuye la GH sérica, y en 85-90 % no se detiene la segregación GH; existe una elevación paradójica en 10-15 % (Barkan, 2007). Si bien en algunos centros especializados se considera

un nivel elevado de IGF-1 como evidencia bioquímica suficiente de hipersomatotropinemia, se considera que es necesario realizar la determinación de GH suprimida por carga de glucosa como prueba confirmatoria. Lo anterior no solamente permite el diagnóstico (o la exclusión de este) en casos con niveles limítrofes de IGF-1, sino que también reconoce las limitaciones que los ensayos de IGF-1 y de GH tienen a causa de la disponibilidad comercial irrestricta y la falta tanto de un número apropiado de controles como de estándares biológicos adecuados (Brooke y Drake, 2007; Clemmons, 2007).

La supresión de GH por carga oral de glucosa (75 g) ha evolucionado enormemente en los últimos años, en especial desde la introducción de los ensayos ultrasensibles de GH (Barkan, 2007; Brooke y Drake, 2007). Tras la SOG, los valores nadir de GH por debajo de 1µg/l, con la mayoría de los métodos, descartan la acromegalia. Sin embargo, si se emplean los métodos ultrasensibles de determinación de GH pueden existir pacientes con acromegalia que supriman por debajo de 1µg/l; con alguno de estos métodos el criterio de supresión es una concentración circulante igual o menor de 0,4µg/l (Giustina y col., 2010; Lugo y col., 2012).

En diferentes situaciones, el **IGF-I** sirve como un biomarcador de la actividad de la acromegalia. Las concentraciones de **IGF-I** son relativamente estables, se correlacionan con los datos clínicos de acromegalia y con las concentraciones plasmáticas elevadas de GH. El nivel plasmático de **IGF-I** no se eleva más cuando las concentraciones de GH son mayores de 20µg/l y elevaciones sutiles de GH no siempre elevan el nivel circulante de IGF-I. La valoración precisa de **IGF-I** requiere controles ajustados por edad, pues sus concentraciones disminuyen un 14% con cada década. En el seguimiento de la enfermedad la determinación de GH e IGF-I circulantes es complementaria.

- **Pacientes con diabetes:** no se debe administrar carga de glucosa cuando la glucemia es mayor de 140 mg/dL, puesto que se esperaría una completa supresión de GH con hiperglucemias de esta magnitud.

- **GH en líquido cefalorraquídeo:** se utiliza como índice de expansión supraselar del tumor.

- **Otras determinaciones hormonales:** cortisol, TSH, LH, FSH, estradiol y testosterona.

- **Otros hallazgos bioquímicos:**

- Hiperglucemia.

- Hipertrigliceridemia y elevación de ácidos grasos libres en plasma.

- Hipercalciuria.

- Hiperfosfatemia.

- **Diagnóstico de localización**

- **Resonancia magnética nuclear o tomografía axial computarizada de hipófisis:** permite la caracterización del tumor (tamaño, extensión y relación con las estructuras vecinas).

- **Campimetría y perimetría:** señala la afectación del quiasma, sobre todo en macroadenomas.

- **Tomografía computarizada toracoabdominal:** permite el estudio Rx de pulmón y páncreas en busca de tumor ectópico secretor GHRH.

- **Endoscopia digestiva:** si se sospecha un tumor ectópico productor de GHRH.

- **Colonoscopia** (Terzolo y col., 2005; Bogazzi y col., 2006).

- **Ecografía:**

Hígado y vías biliares: se realiza en los pacientes en quienes se planea aplicar tratamiento médico con *octreótido*, por la posibilidad del desarrollo subsecuente de *litiasis biliar*.

Visceromegalia: agrandamiento de próstata, riñones, hígado y tiroides. Otros hallazgos: quistes renales, micronefrolitiasis, deterioro hemodinámico renal, cálculos biliares, esteatosis hepática, nódulos tiroideos, bocio multinodular y ovarios poliquísticos. Hallazgos de la ecografía musculoesquelética: aumento del grosor del cartílago, deterioro de la densidad y elasticidad de los huesos (Parolin y col., 2020).

- **Ecocardiografía:** miocardiopatía con hipertrofia biventricular o de VI, disfunción diastólica y sistólica, regurgitación aórtico-mitral y aumento de la raíz aórtica. Marcadores de aterosclerosis: aumento de la íntima-media arterial (Parolin y col., 2020).

- Tratamiento de la acromegalia

Objetivos: (Barkan, 1989; Lucas Morante, 2005; Katznelson y col., 2011).

- Controlar del crecimiento tumoral.
- Normalizar las concentraciones elevadas de IGF-I y GH.
- Controlar los síntomas, mejorar de la calidad de vida y las comorbilidades.
- Prevenir la mortalidad prematura.

a. Tratamiento quirúrgico

La extirpación quirúrgica de la masa tumoral se considera el primer paso del tratamiento en la acromegalia, a menos que los pacientes no sean aptos para la cirugía o rechacen la operación. En casi todos los casos se utilizan abordajes mínimamente invasivos: transesfenoidales o endoscópicos. Si es factible un enfoque curativo o si se planea un procedimiento de citorreducción, se puede anticipar sobre la base de la RM preoperatoria. Los resultados quirúrgicos dependen de factores relacionados con el tumor: tamaño, extensión, presencia o ausencia de invasión y la magnitud de la secreción excesiva de IGF-1 y GH (Buchfelder y Feulner, 2016).

La cirugía es el procedimiento de elección en microadenomas, macroadenomas con síntomas compresivos y macroadenomas con posibilidad de curación (Grado A). También puede ser el tratamiento de elección en macroadenomas no subsidiarios de curación, a fin de disminuir el tamaño tumoral (Grado B). Permite obtener tejido tumoral para estudio IHQ, ultraestructural y molecular, lo que ayuda a seleccionar el mejor tratamiento médico posterior. En macroadenomas, se debe estudiar la necesidad de la sustitución hormonal del eje adrenal o tiroideo previa a la cirugía (Grado C). La intervención quirúrgica descompresiva de emergencia se indica ante pacientes con síndrome quiasmático progresivo. En casos de grandes tumores invasores que producen hipertensión endocraneana, resulta de suma importancia la inserción de válvulas de derivación. La experiencia de los últimos años enfatiza la necesidad de un equipo multidisciplinario para el control de la enfermedad.

- **Procedimiento quirúrgico:** *adenomectomía por microcirugía transesfenoidal (translabial o transnasal)*. En tumores invasivos con marcado crecimiento supraselar, se puede requerir el *acceso transcraneal*. Los mejores resultados se obtienen en pacientes con tumores menores de 10 mm de diámetro (Katznelson y col., 2011; Astafeva y col., 2017).

Luego de la resección exitosa de un somatotropinoma, el descenso en los niveles de GH se observa a las 2 semanas y en los niveles de IGF-1, a las 4-6 semanas. Sin embargo, uno u otro parámetro puede persistir elevado durante meses. Se recomienda realizar la primera evaluación hormonal posoperatoria 3 meses después del procedimiento quirúrgico y no tomar decisiones mayores respecto a tratamientos subsecuentes (radioterapia o segundas intervenciones) hasta después de 6 meses. La normalización de los niveles de IGF-1 parece ser el punto de acuerdo para definir la curación (Losa y col., 2006; Liz y col., 2012). Se considera que la tasa de recurrencia de la enfermedad es de 12 % a los 10 años y se sabe que las segundas intervenciones tienen una posibilidad de éxito menor al 30 %. La *operación transesfenoidal* es la mejor opción terapéutica en caso de acromegalia y la única que ofrece la posibilidad de curación sin necesidad de medicamentos a largo plazo (Ahmed y col., 1999).

La cirugía es un pilar fundamental en el tratamiento de la acromegalia, pero su eficacia en tumores invasivos grandes es escasa. El tratamiento prequirúrgico con *análogos de somatostatina (ASS)* redujo los niveles de GH e IGF-1 en todos los pacientes. La extirpación quirúrgica del tumor (> 75%) mejora la respuesta a los ASS sin afectar la función hipofisaria (Colao y col., 2006).

Aunque el tratamiento primario suele ser la resección transesfenoidal del adenoma, la mayoría de los pacientes requieren una intervención *multimodal* que incluye: radioterapia y terapia farmacológica (Melgar y col., 2015).

b. Tratamiento farmacológico (Colao y col., 2001, 2006; Freda, 2002; Cozzi y col., 2004, 2006; Ben-Sholomo y Melmed, 2008; Sherlock y col., 2011).

- Pacientes con contraindicación para la operación.
- Fallos del tratamiento quirúrgico.
- Tumores invasivos.
- Espera del efecto de la radioterapia.
- Preintervención quirúrgica.

- **Agonistas de dopamina:** (Abs y col., 1998; Nomikos y col., 2005; Laws, 2008).

Actúan a través de los *receptores de dopamina (D2)* disminuyendo la hipersecreción de GH (*Grado A*).

- *Bromocriptona*: se usó inicialmente, con alguna acción en un 10% de los pacientes, por lo que hoy no se recomienda su uso.

- *Cabergolina* (1-4 mg/semana, oral): agonista más selectivo, es el único dopaminérgico que tiene algún papel en el tratamiento de la acromegalia. La experiencia con los nuevos agonistas dopaminérgicos como la *cabergolina* normaliza el IGF-I en un 30 a 50 % de los casos. Se sabe que la respuesta a los agonistas dopaminérgicos no tiene relación con los niveles de PRL (Nomikos y col., 2005; Laws, 2008). Con el uso prolongado se producen cálculos biliares en un 5 a 20% (*Grado B*). Los cálculos suelen ser asintomáticos, por lo que puede recomendarse un control ecográfico (Chakravarty y col., 2012).

La *cabergolina* es una terapia eficaz y bien tolerada que debe considerarse en el manejo de la acromegalia, especialmente si el adenoma hipofisario cosecreta GH y PRL o si los niveles de IGF-I previo al tratamiento están por debajo de 750 µg/L con una reducción de masa de más de la mitad en dichos adenomas (Abs y col., 1998).

- **Análogos de la somatostatina (ASS):** (Minniti y col., 2003; Bourdeloy y col., 2004).

- *Octreotida* (50-200 µg SC, 3 veces al día).

Reacciones secundarias: náuseas, heces acólicas, litiasis biliar, hiperglucemia.

- *Octreotida LAR* (10-40 mg IM, mensual).

Reacciones secundarias: heces acólicas, litiasis biliar (Daughaday, 1990; Mestrón y col., 2004; Nemergut y col., 2005; Anthony y Freda, 2009).

- *Pasireotida LAR*: demostró una eficacia superior sobre *octreotida LAR* y es una nueva opción de tratamiento de la acromegalia (Colao y col., 2014).

- *Lanreotida* (60-120 mg IM, cada 15 días).

Reacciones secundarias: litiasis biliar, heces acólicas.

- *Lanreotida autogel* (60 a 120 mg IM, mensual).

Reacciones secundarias: litiasis biliar, heces acólicas.

- **Antagonista de la GH:**

- *Pegvisomant (PEG)*: 10 a 40 mg, SC/día).

Reacciones secundarias: cefalea, fatiga, elevación de enzimas hepáticas.

Los enfoques *quirúrgicos, médicos y de radioterapia* son todas alternativas válidas. Sin embargo, la opción quirúrgica no tiene éxito en aproximadamente el 50% de los pacientes. Los análogos de la somatostatina (ASS), el *octreótido LAR* y el *lanreótido ATG* pueden inhibir el crecimiento celular, además de sus efectos beneficiosos sobre la hipersecreción de GH y sobre las comorbilidades. La *pasireotida* es un ASS dirigida a múltiples receptores con una eficacia bioquímica superior a la *octreotida*, debido a una mayor afinidad por **SSTR-5**, pero que causa efectos perjudiciales sobre la homeostasis de la glucosa. *Pegvisomant (PEG)*: opción válida en todos los pacientes resistentes a los ASS. Es un *antagonista*

competitivo de la GH, que bloquea eficazmente la producción de IGF-I, inhibiendo la dimerización del receptor de GH. Los niveles normales de IGF-I representan el único criterio de valoración de eficacia relevante (Frara y col., 2016).

El receptor somatostatinérgico pertenece a la familia de receptores heptahélicos asociados a proteínas G, en este caso G_i , por lo que su activación produce inhibición de la adenilato ciclasa y, por lo tanto, disminución en la generación de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC). La *octreotida* y la *lanreotida* son ASS de larga acción con alta especificidad para los SSTR-2 y 5. La *octreotida* tiene una vida media de 2 a 3 hs y no tiene el problema en la secreción de rebote que ocurre con la somatostatina nativa. Numerosos estudios han demostrado la utilidad de la *octreotida* (50-200 μg , 3 veces al día), en el control clínico, bioquímico y tumoral de la acromegalia (Minniti y col., 2003; Bourdelot y col., 2004).

La *octreotida-LAR* (*long-acting repeatable*) es una preparación que consiste del análogo unido a microesferas de un polímero biodegradable, lo cual permite una liberación bifásica a partir de la administración IM y le confiere una vida media de 28-35 días. Se administra cada 4 semanas a razón de 10-40 mg cada vez. Asimismo, la *lanreotida autogel* es una preparación del análogo en una base acuosa que permite su administración SC en forma mensual (Bourdelot y col., 2004). La eficacia sobre los niveles de GH/IGF-I en pacientes y el excelente control indican que el tratamiento con *octreótida LAR* puede ser el primer abordaje terapéutico para todos los pacientes con acromegalia no susceptibles de curación quirúrgica. La contracción del tumor también podría fomentar la evaluación de su adopción primaria en pacientes con defectos iniciales del campo visual (Cozzi y col., 2006).

La prueba con *octreotida* SC se justifica como prueba de tolerancia, pero no predice la eventual respuesta a la preparación de depósito, mientras que los ASS inhiben la secreción de GH debido a su interacción con el SSTR-2, la interacción con el SSTR-5 tiene como consecuencia la detención en el ciclo celular y la inducción de apoptosis, lo cual se traduce clínicamente como una reducción en el tamaño tumoral (> 20%) en un 70% de los somatotropinomas (Mestrón y col., 2004; Nemergut y col., 2005).

Se revisó la experiencia de 20 años con *octreotida* (potente análogo sintético de la somatostatina) y el impacto que ha tenido en pacientes acromegálicos y en portadores de tumores neuroendocrinos. El desarrollo de *octreotida LAR* ofreció un avance adicional ya que la dosificación menos frecuente proporcionó beneficios valiosos en la calidad de vida de los pacientes, con una eficacia y tolerabilidad equivalentes (Anthony y Freda, 2009).

Los *ligandos del receptor de somatostatina (LRS)* y los *antagonistas de GH* se utilizan para controlar los niveles de GH e IGF-1 en pacientes con acromegalia. Sin embargo, estas terapias están limitadas por amplias variaciones en eficacia, efectos adversos asociados y necesidad de inyecciones frecuentes. Las cápsulas de *octreótida* oral pueden mantener de forma segura los niveles suprimidos de GH e IGF-1 y reducir la gravedad de los síntomas en pacientes con acromegalia previamente controlados con la terapia de LRS inyectable (Melmed, 2009 y 2016).

Se acepta que las indicaciones para tratamiento primario con ASS son: (Patel, 1997).

- a) Macroadenomas invasores.
- b) Contraindicaciones cardiopulmonares para la anestesia general.
- c) Ausencia de un neurocirujano con experiencia en hipófisis.
- d) Preferencia del paciente.

El PEG se presenta en viales para administración SC de 10, 15 y 20mg. Se aconseja iniciar con una dosis de 80mg para conseguir concentraciones adecuadas y proseguir con una dosis que oscila entre 10-20mg/día (van der Lely y col., 2001). A diferencia de los ASS, diversos estudios demuestran que el PEG mejora la homeostasis de la glucosa, por lo que podría ser una opción en pacientes diabéticos o con intolerancia a la misma (*Grado C*) Drake y col., 2003).

Los primeros ensayos clínicos con PEG demostraron una reducción de IGF-I en el 60% a las 12 semanas, con una normalización del mismo de hasta un 89% y en estudio abierto de 18 meses en un 97% de los pacientes junto a una disminución en los síntomas de forma dependiente de la dosis (*Grado B*) (Trainer y col., 2000). Algunos factores pueden influir en la respuesta terapéutica, habiéndose señalado que el sexo femenino y el mayor índice de masa corporal precisan una mayor dosis, así como

la concentración previa de GH e IGF-I. La radioterapia previa mejoraría la respuesta (Parkinson y col., 2007). Algunos pacientes pueden requerir hasta 40mg/día. Dado su elevado costo, se han utilizado regímenes de administración (1 vez o 2 veces a la semana), lo que puede ser de utilidad en determinados pacientes (*Grado C*) (Higham y col., 2009).

En el *German Pegvisomant Observational Study*, con 229 acromegálicos medicados con **PEG**, pero que habían sido tratados previamente mediante cirugía (90,4%), radioterapia (43,2%) y tratamiento médico (94,3%), se logró una normalización de IGF-I del 70,9% a los 12 meses y del 76,3% a los 24 meses (Buchfelder y col., 2009).

El **PEG** es un mutante de GH, que impide la dimerización funcional del receptor de GH y la generación de IGF-I. Hasta la fecha, más de 800 pacientes han sido tratados con esta molécula (Debono y Newell-Price, 2010). El 95-100 % de los pacientes tratados con **PEG** logran normalizar sus concentraciones de IGF-I y mejoran clínicamente. No se han registrado efectos secundarios importantes, a excepción de la elevación de transaminasas hepáticas en una minoría de los pacientes (Petersenn y col., 2010).

Efectos adversos: se han comunicado unos pocos casos de crecimiento tumoral (3,2%), aunque es probable que pueda relacionarse con la historia natural del tumor, ya que los cambios en el volumen no dependen de la duración del tratamiento y se relacionan con tumores de mayor agresividad o por un efecto rebote tras retirada de los **ASS** (*Grado C*) (Jimenez y col., 2008; Buchfelder y col., 2009; Buhk-Jung y col., 2010). La radioterapia parece disminuir el potencial de crecimiento (*Grado C*), que también se ha relacionado con el tiempo de tratamiento con **ASS** (*Grado D*) (Marazuela y col., 2011).

Se recomienda seguimiento con RM cada 6 meses en el primer año y luego cada año (*Grado C*) y sería prudente evitar el tratamiento con **PEG** como monoterapia en pacientes con grandes macroadenomas o tumores próximos al quiasma óptico (*Grado C*). En un 2,5% de los pacientes tratados con **PEG** se produce una elevación de las enzimas hepáticas respecto a la normalidad, con datos de 1.288 pacientes (*Grado B*) (van der Lely y col., 2012). Esta alteración suele presentarse en los primeros 3 meses de tratamiento y, por lo general, es autolimitada y no se relaciona con la dosis (*Grado B*), aunque sí con el tratamiento previo con **ASS** (*Grado D*). Se recomienda la monitorización de las pruebas de función hepática de forma periódica y la suspensión del tratamiento en los casos de alteración severa o signos de hepatitis (*Grado C*) (Schreiber y col., 2007).

El tratamiento crónico con **PEG** produce un déficit funcional de GH, por lo que el objetivo de tratamiento debería ser el mantenimiento de IGF-I en el rango alto de normalidad, ajustado por edad y sexo (Muller y van der Lely, 2004). Otros efectos adversos del **PEG** pero menos frecuentes son el desarrollo de lipohipertrofia en la zona de inyección, que suele también presentarse en las primeras semanas de tratamiento y que cede al suspenderlo (Bonert y col., 2008). Más raramente pueden producirse reacciones alérgicas, dolor y eritema local tras la inyección, mareos, cefalea y síndrome gripal (*Grado C*) (PEG. Agencia Española de Medicamentos).

Tratamientos combinados

En algunos pacientes en los que no se consigue una respuesta óptima clínica o bioquímica podría plantearse la asociación de los fármacos descritos. En general, los tratamientos combinados consiguen una mayor efectividad y pueden hacer disminuir las dosis y la toxicidad (Ben-Shlomo y col., 2011; Roset y col., 2012). La asociación de *cabergolina* en pacientes no controlados con **ASS** consiguió una normalización de IGF-I en el 40%. La respuesta no se relaciona con hiperprolactinemia, ni con IHQ positiva a PRL en el tumor (*Grado C*) (Jallad y Bronstein, 2009; Mattar y col., 2010).

Otros estudios valoran la asociación de **PEG** y *cabergolina* (Higham y col., 2012; Bernabeu y col., 2013). En el primero, la adición de **PEG** a dosis de 0,5-10mg/día de cabergolina normalizó IGF-I en un 68%. Al retirar la cabergolina solo el 26% mantenían IGF-I en los límites normales. La asociación de **PEG** a **ASS** constituye una opción atractiva y en la mayoría de los trabajos parece más eficaz en disminuir los niveles de IGF-I que cada fármaco por separado (Negggers y van der Lely, 2011), aunque en un estudio de pacientes resistentes a **ASS**, la asociación no fue superior a **PEG** solo (Trainer y col., 2009). Este tr-

tamiento combinado permite disminuir la frecuencia de la inyección de **PEG** en 1 ó 2 dosis semanales (Feenstra y col., 2005).

La combinación tiene la ventaja de que los **ASS** pueden disminuir el tamaño tumoral y el **PEG** puede mejorar el efecto deletéreo de estos sobre la homeostasis de la glucosa (*Grado C*). Como desventaja puede esperarse una mayor toxicidad hepática con elevación de enzimas que ocurrió en un 11-15% de los casos, con un riesgo mayor en pacientes diabéticos (Neggers y van der Lely, 2011).

La adición de *cabergolina* al *octreótido* fue eficaz tanto en el control del IGF-I en la acromegalia, a corto como a largo plazo del IGF-I, especialmente en pacientes con niveles elevados de GH/IGF-I durante el uso de octreótido (Mattar y col., 2010).

c. Radioterapia hipofisaria (Barkan, 2003; Attanasio y col., 2003; Castinetti y col., 2005)

Indicada en pacientes con tumores invasivos en los que en la intervención quirúrgica solo se ha podido extraer una porción de éstos y el remanente está separado al menos 5 mm del quiasma óptico. Dosis de radiación: 4.000-5.000 rad (40-50 Gray), administrados durante 5-6 semanas de tratamiento sin exceder los 180 rad diarios, 5 días a la semana (Mao y col., 2010). También se indica radioterapia en pacientes con tumores que han recurrido o persistido después del tratamiento quirúrgico y que además tengan resistencia, intolerancia o falta de acceso al tratamiento farmacológico. La indicación más clara es lograr el control del crecimiento del tumor cuando otras medidas no han alcanzado ese objetivo o no están disponibles. La radioterapia externa convencional se administra durante varias semanas y la dosis total debe ser de 40-54 Gy (Petersenn y col., 2010).

El problema fundamental de la radioterapia es que los niveles de GH e IGF-I tardan por lo menos 2 años (en ocasiones más de 5 años), en descender a límites normales. La efectividad terapéutica a largo plazo de la radiocirugía es semejante a la de la radioterapia convencional, pero el beneficio en términos de control de la hipersecreción de GH parece ocurrir de manera más temprana. Esto último también ha sido cuestionado, al argumentar que en las series que usan radiocirugía poseen un sesgo de selección hacia pacientes con tumores más pequeños. La gravedad bioquímica de la acromegalia es determinante en el éxito terapéutico de la radioterapia. Aquellos pacientes con niveles de GH basal mayores de 10 ng/mL tienen pocas probabilidades de lograr un control bioquímico a largo plazo (De Herder y col., 2005; Halperin y col., 2008). La radioterapia es considerada como tratamiento de tercera línea en pacientes no controlados tras cirugía y en aquéllos no respondedores a tratamiento médico (*Grado C*), si bien en algunas ocasiones puede ser considerado de segunda línea.

Existen 2 modalidades de radioterapia: *radioterapia convencional conformada (RTC)* y *radioterapia estereotáxica (RE)*, bien en dosis única (radiocirugía, RC), bien en dosis múltiples (RE fraccionada, REF) (Castinetti y col., 2009). La **RTC** puede disminuir la GH y normalizar el IGF-I en el 60% de los pacientes, pero la máxima respuesta puede conseguirse a los 10-15 años. Se consigue el control del volumen tumoral en 85-90% de los pacientes, con descenso del volumen tumoral en más del 50% de los pacientes (*Grado C*). La progresión del tumor después de la radioterapia es excepcional. El tratamiento médico debe mantenerse mientras la radioterapia es eficaz (*Grado B*). Se administra habitualmente en dosis de 160-180cGy durante 4 o 5 días/sem durante 5 o 6 sem (dosis total 4.500-5.000cGy). En la actualidad las técnicas **RE** son de elección, ya que permiten una mejor planificación del campo a radiar, con un menor riesgo de radiación de estructuras adyacentes (Landolt y col., 1998; Attanasio y col., 2003).

En pacientes con pequeños restos tumorales con concentraciones no muy elevadas de GH e IGF-I, debe recomendarse tratamiento con **RC**: *γ-knife*, acelerador lineal, protones, etc. (*Grado C*). La **RC** consigue habitualmente un control bioquímico más precoz. Se han reportado rangos de remisión del 17-50% en un seguimiento de 2 a 5 años. Algunas series repiten **RC** cuando no se consigue remisión tras la primera dosis. El tiempo de repetir el tratamiento o el incremento de las complicaciones no está establecido (Powell y col., 2000). En pacientes con restos tumorales grandes, con invasión de estructuras vecinas y concentraciones elevadas de GH e IGF-I, sobre todo si no responden adecuadamente a tratamiento médico, debe aconsejarse **REF** (Castinetti y col., 2009).

a. Cobaltoterapia convencional.

Ventajas: se indica cuando el tumor está cerca del quiasma óptico.

Desventaja: son necesarias 25 a 30 sesiones. Remisión lenta en años.

b. Rayos protónicos.

Ventajas: sesión única o fraccionada.

Desventajas: poca disponibilidad. El tumor debe estar a más de 5 mm del quiasma. No más datos de remisión.

c. Acelerador lineal.

Ventajas: sesión única o fraccionada.

Desventajas: las mismas que en b.

d. Bisturí gamma.

Ventajas: sesión única o fraccionada. Remisión temprana.

Desventajas: las mismas que en c y d.

Radiocirugía estereotáxica (RE): bisturí gamma y acelerador lineal: la radiocirugía requiere de una delimitación precisa del tumor mediante imágenes computarizadas para minimizar la posibilidad de daño a estructuras adyacentes, especialmente el quiasma óptico: Se recomienda que la dosis de exposición a radiación al quiasma sea menor o igual a 8 Gy, lo que disminuye el riesgo de daño visual. También se recomienda que la distancia entre el tumor y el quiasma sea al menos de 3 a 5 mm. La radioterapia convencional, por otro lado, puede usarse en tumores que están en contacto directo con el quiasma (Halperin y col., 2008).

Tratamiento médico durante la radioterapia

Algunos estudios recomiendan suspender el tratamiento médico con **ASS** al menos un mes antes y durante el tiempo que dure la radioterapia, debido a su efecto radioprotector (Landolt y col., 2000; Pollock y col., 2007), pero otros estudios no confirman estos hallazgos (Ning y col., 2009).

No existen datos concluyentes en este sentido, ni está bien definido cuándo debería suspenderse el tratamiento antes de la radioterapia (*Grado C*). El tratamiento asociado a **ASS** no alteraría la efectividad de la radioterapia. Después de 10 años la mayoría de los pacientes muestra evidencia de deficiencia de por lo menos 2 hormonas hipofisarias y requiere del reemplazo correspondiente (Colao y col., 2011).

d. Tratamiento psicológico

Las deformidades producidas por la acromegalia dan lugar con frecuencia a que los pacientes tengan desajustes emocionales o trastornos psíquicos más graves que pueden ser atendidos por un psicólogo o psiquiatra.

e. Complicaciones

- **Hipopituitarismo:** a largo plazo aparece en más del 50% de los pacientes a los 5 años (*Grado A*). La incidencia y severidad es dependiente de la dosis. Su presencia se asocia a un incremento del riesgo de mortalidad y a enfermedad cardiovascular. En pacientes jóvenes que deseen fertilidad, debe considerarse el riesgo de hipopituitarismo antes de recomendar la radioterapia (*Grado B*). En un estudio de 501 pacientes acromegálicos tratados con radioterapia se observó un incremento de todas las causas de mortalidad frente a los pacientes no radiados. El riesgo de muerte por enfermedad cerebrovascular fue 4 veces superior en los pacientes irradiados. La pérdida de visión se presenta en algunos casos (0-3%) (Sherlock y col., 2010).

- Comorbilidades de la acromegalia

Las comorbilidades asociadas con los somatotropinomas pueden ser debidas al efecto local del tumor, a los déficits hormonales hipofisarios asociados o al exceso de GH e IGF-I. Respecto a las comorbilidades dependientes del exceso de GH o IGF-I, una detección precoz y una corrección de los factores de riesgo asociados nos permitirían reducir la mortalidad secundaria a estas complicaciones.

Aunque el control bioquímico de la acromegalia puede mejorar o estabilizar estas comorbilidades, un porcentaje significativo de pacientes van a precisar tratamiento adicional (Giustina y col., 2003; Chanson y col., 2009).

La mayoría de estas comorbilidades se pueden prevenir o retrasar con un tratamiento adecuado de la enfermedad y, estudios más recientes con el uso de tratamientos modernos de la acromegalia, han demostrado un cambio en la gravedad y la prevalencia de estas complicaciones. Además, la acromegalia se asocia a un aumento de la mortalidad, pero estudios recientes han mostrado un escenario diferente al de estudios más antiguos, ya que la mortalidad ya no aumenta en pacientes adecuadamente controlados y un cambio en la principal causa de muerte desde la enfermedad cardiovascular hasta las neoplasias (Kasuki y col., 2019).

a. Complicaciones cardiovasculares:

- **Hipertensión arterial:** es muy prevalente (superior al 40%) en pacientes con acromegalia, por ello el control tensional debe realizarse de forma rutinaria y se agrava por la apnea del sueño. El tratamiento de la hipertensión arterial debe ser precoz y agresivo, independiente del tratamiento de la acromegalia y con un objetivo de alto riesgo: mantener valores tensionales inferiores a 130/80mmHg (*Grado A, BEL3*) (Chanson y col., 2008). La hipertensión arterial en la acromegalia es multifactorial y su control debe basarse en las características clínicas de cada paciente para elegir el régimen antihipertensivo. La meta del tratamiento antihipertensivo en el paciente acromegálico es la misma que en sujetos sin acromegalia (120/80 mm de Hg). Se puede realizar prueba de esfuerzo, ecocardiograma y angiografía coronaria para descartar la presencia de enfermedad coronaria (Colao y col., 2006).

- **Miocardiopatía:** la hipertrofia biventricular es el hallazgo característico de la cardiopatía acromegálica. Inicialmente se expresa como disfunción diastólica de esfuerzo, que puede progresar a disfunción diastólica en reposo y rara vez a miocardiopatía congestiva dilatada. Pueden aparecer arritmias en un 40% de los pacientes. Se debe valorar el riesgo cardiovascular incluyendo colesterol total, c-LDL, c-HDL y triglicéridos (*Grado C*). La valoración cardiológica debe incluir ECG. Se recomienda realizar ecocardiograma si hay evidencia de hipertrofia de VI en el ECG o si tienen síntomas que incluyen arritmias o disnea (*Grado C*). Además, los pacientes con acromegalia, especialmente aquellos con gigantismo, requieren valoración del sistema arterial periférico, incluyendo la enfermedad venosa periférica. La disminución de las concentraciones de GH puede mejorar el tamaño del VI y la función cardíaca. No obstante, la función cardíaca se normaliza solo en el 50% de los pacientes mayores de 40 años. Los posibles efectos valvulares de la cabergolina en dosis altas en pacientes con acromegalia son controvertidos, no obstante, se debe solicitar un ecocardiograma antes de iniciar este tratamiento (Chanson y col., 2008).

b. Alteraciones metabólicas:

- **Diabetes mellitus:** es un factor predictor importante en el aumento de mortalidad en los pacientes con acromegalia, por ello, se debe monitorizar y realizar tratamiento adecuado (*Grado C*). En general, el descenso de GH mejora el control glucémico. La diabetes mellitus debe tratarse igual que en los pacientes diabéticos no acromegálicos, con el objetivo de mantener una hemoglobina A_{1c} inferior a 6,5% (*Grado C*).

La prevención y el tratamiento de complicaciones metabólicas (diabetes, intolerancia a la glucosa, dislipidemia) deberá incluir un programa de ejercicio y de alimentación. En lo que respecta a los trastornos en el metabolismo de carbohidratos, los pacientes acromegálicos con diabetes generalmente responden bien a fármacos sensibilizadores de insulina como la *metformina*, aunque en ocasiones requieren de secretagogos de insulina (*glibenclamida* o *glimpirida*) y hasta de *insulina* (Freda y col., 2005; Colao y col., 2006). Los ASS producen un deterioro en la tolerancia a la glucosa y podrían ocasionar o empeorar una diabetes mellitus. En estos casos puede disminuirse la dosis si el control de la enfermedad lo permitiese, sustituir por el antagonista de GH u optimizar el control glucémico con los fármacos hipoglucemian-

tes (Mazzioti y col., 2009; Colao y col., 2009). Se han comunicado algunos casos de pancreatitis, lo que resulta paradójico ya que los ASS se utilizan en el tratamiento de éstas (Bodemar y Hjortswang, 1996).

- **Trastornos lipídicos:** los mismos principios anteriores se aplican al control de los lípidos en el paciente acromegálico, aunque se debe recordar que el hecho de ser acromegálico ya constituye un factor de riesgo coronario, por lo que las cifras deseables de LDL-C son menores de 100 mg/dL, de HDL-C mayores de 45 mg/dL en hombres y mayores de 55 mg/dL, y de triglicéridos menores de 150 mg/dL (Freda y col., 2005; Colao y col., 2006).

c. Trastornos respiratorios:

- **Síndrome de apnea del sueño (SAS):** tiene una alta prevalencia en la acromegalia, afectando hasta al 70% de los pacientes de reciente diagnóstico. La causa principal es la obstrucción por engrosamiento faríngeo y macroglosia, aunque puede tener también un componente central. Se recomienda, si hay síntomas evidentes, realizar una oximetría domiciliaria y una polisomnografía nocturna (*Grado C*) (Chanson y col., 2008).

d. Alteraciones articulares:

- **Artropatía:** la degeneración articular puede afectar a cualquier articulación y los cambios son, en general, irreversibles. Se debe intentar realizar un diagnóstico y tratamiento precoz y debería ser manejada con fisioterapia, antiinflamatorios sistémicos o intraarticulares, o implantación de una prótesis cuando sea necesaria (*Grado C*).

- **Síndrome del túnel carpiano:** debe valorarse la presencia de síntomas y/o signos de síndrome del túnel del carpo. Los síntomas pueden mejorar al reducir la GH pero si persiste debe realizarse tratamiento específico, incluyendo el quirúrgico (*Grado C*).

e. Alteraciones óseas:

- **Hipercalcemia e hipercalcemia:** pueden aparecer por exceso de GH y se deben a una alteración del metabolismo de la vitamina D. Son reversibles con la curación de la acromegalia. Si persiste la hipercalcemia hay que descartar hiperparatiroidismo concomitante en el contexto de neoplasia endocrina múltiple.

- **Osteoporosis:** en los pacientes con acromegalia se deben evaluar los riesgos de osteoporosis. Se recomienda realizar densitometría ósea y determinación de los niveles de calcio, sobre todo si hay historia de hipogonadismo o fractura. La utilidad de la DEXA como técnica diagnóstica de osteoporosis no está bien documentada en pacientes acromegálicos, ya que el mayor grosor del hueso puede influir en la medición de la densidad mineral ósea. Si hubiese osteoporosis y no mejorase con la corrección del hipogonadismo o el exceso de GH e IGF-I, se debe considerar tratamiento antirreabsortivo (*Grado C*).

f. Pólipos y cáncer de colon:

Aunque no hay suficiente evidencia para decir que los pacientes con acromegalia tengan riesgo elevado de cáncer de colon, sí hay una mayor prevalencia de pólipos de colon. También se ha visto una mayor mortalidad por cáncer de colon de la esperada. Por ello, se recomienda realizar una colonoscopia de cribado en el momento del diagnóstico en adultos (*Grado C*). Si no hubiese pólipos ni cáncer, se recomienda revisar igual que a la población general con riesgo elevado (colonoscopia cada 5 años) (Chanson y col., 2008).

g. Complicaciones psicosociales:

La acromegalia se asocia con un deterioro de la calidad de vida y los tests específicos de medición de esta variable, como AcroQoL, son una importante herramienta para la medida de resultados y se debe utilizar en la práctica clínica. El control bioquímico mejora varios aspectos de la función psicosocial, aunque la normalización bioquímica no siempre normaliza estos aspectos (Katznelson y col., 2011)

- Mortalidad

La acromegalia se asocia con un incremento de la mortalidad de 2 a 2,5 veces. La normalización de GH o IGF-I puede mejorar el riesgo de mortalidad (Dekkers y col., 2008). El control bioquímico eficaz de los niveles de GH e IGF-I en sujetos con acromegalia puede reducir la mortalidad. Varios estudios retrospectivos han informado que el aumento de la mortalidad mejora si los niveles de GH se reducen a $< 2,5 \mu\text{g/l}$. Sin embargo, los estudios epidemiológicos han relacionado los valores de GH y no los valores de IGF-I con la morbilidad y mortalidad a largo plazo. La GH sérica fue el predictor más significativo de mortalidad, con tasas de mortalidad reducidas a la normalidad al alcanzar concentraciones de GH $< 1-2 \mu\text{g/l}$ (Sheppard, 2005).

- Seguimiento de la acromegalia a largo plazo

1. *Acromegalia curada luego de la cirugía*: se debe constatar normalización de GH e IGF-I y supresión de GH tras SOG (inferior a 1 o $0,4 \mu\text{g/l}$), los pacientes deben ser seguidos de forma periódica. Deberán realizarse determinaciones seriadas de las concentraciones de GH e IGF-I (cada 6 meses al inicio y anualmente después).

2. *Acromegalia controlada luego de tratamiento farmacológico*: en pacientes tratados con **ASS** deberán monitorizarse con determinación de GH e IGF-I cada 3-4 meses para ajuste de dosis y luego bianual o anual. No es necesaria la realización de SOG en el seguimiento. En pacientes tratados con **PEG** la monitorización deberá realizarse solo con la determinación de IGF-I.

3. *Acromegalia tratada con radioterapia*: la monitorización debe realizarse igual que en 2. Tras la radioterapia el paciente debe continuar con el tratamiento farmacológico hasta conseguir un adecuado control. Se aconseja disminuir la dosis y suspender de forma periódica los medicamentos (*Grado B*). Cada año debe realizarse un estudio de la función hipofisaria (gonadal, tiroideo y adrenal) para iniciar tratamiento sustitutivo si el paciente presenta hipopituitarismo (*Grado B*) (Chanson y col., 2008).

- Criterios de control de la acromegalia

Enfermedad controlada:

GH: $< 2,5 \text{ ng/ml}$.

GH luego de SOG: < 1 ó $0,4 \text{ ng/ml}$.

IGF-1: normal.

Enfermedad activa:

GH: elevada.

GH luego de SOG: > 1 ó $0,4 \text{ ng/ml}$

- Control de los pacientes

- *Poscirugía*: control con RMN a los 3 o 4 meses de la cirugía.
- *Posterapia farmacológica*: control con RM a los 3 o 4 meses del inicio del tratamiento.
- *Pacientes controlados con ASS*: deberá realizarse RMN al año con objeto de comprobar la disminución del tamaño tumoral. Si el paciente no está controlado deberá realizarse cada 6 meses al inicio y anual después.
- *Pacientes en tratamiento con PEG*: deberá realizarse RMN cada 6 meses al inicio por si hubiese crecimiento tumoral y anual después. En pacientes tratados con radioterapia deberá realizarse control anual hasta la desaparición o el control tumoral.
- *Control de las comorbilidades*: iniciar tratamiento sustitutivo si aparece hipopituitarismo.
- *Restaurar el eje somatotrópico*. Todas las modalidades de tratamiento de la acromegalia (quirúrgico, radioterapia o medicamentoso) tienen el potencial de provocar deficiencia de GH, ya sea en forma aislada o como parte de un panhipopituitarismo y están asociadas a una mayor mortalidad cardiovascular (Freda y col., 2005).

- Criterios de curación

- *Concentración plasmática de GH e IGF-I normales.*

Resulta importante enfatizar que los pacientes con actividad bioquímica leve, ya sea elevaciones menores de IGF-1 y/o GH que suprime a < 1 ng/mL, pero no alcanza el nadir observado en personas normales, no requieren tratamiento, a menos que exista actividad clínica evidente (Fougne y col., 2012).

- *Ausencia de tumor en la RMN.*

Se desconoce cuál es el momento ideal para evaluar bioquímicamente a los pacientes después de la operación transesfenoidal. Se considera que 3 meses después del procedimiento es tiempo suficiente para que el eje somatotrópico se normalice, aunque hay casos bien descritos de retraso hasta de 1 año en la normalización de la IGF-I. Así, 3 meses después del procedimiento quirúrgico se recomienda la realización de curva de tolerancia a la glucosa (75 g) con determinación de GH y niveles de IGF-I. Si la IGF-I ajustada para edad y sexo, es normal y la GH suprime a menos de 0,5 ng/ml (ensayo ultrasensible), el paciente se considera en remisión. A los 6 meses después de la intervención se realiza RMN para constatar la ausencia de remanente tumoral.

17.2 Enanismo y acondroplasia

17.2.1 Enanismo

El *enanismo* es la estatura baja ocasionada por una enfermedad o un trastorno genético. Por lo general, el enanismo se define como una estatura adulta de 147 cm o menos. La estatura adulta promedio entre las personas con enanismo es de 122 cm. Existen varios trastornos médicos diferentes que causan enanismo y que se dividen en dos categorías:

a. Enanismo proporcionado. Un cuerpo es proporcionadamente pequeño si todas las partes del cuerpo son pequeñas en el mismo grado. Las enfermedades presentes en el nacimiento o primera infancia limitan el crecimiento. Algunas personas prefieren los términos baja estatura o gente pequeña en lugar de *enano* o *enanismo*. Los trastornos de baja estatura no incluyen la baja estatura hereditaria que se considera una variación normal con desarrollo normal de los huesos. El *enanismo proporcionado* genera problemas cardíacos y ausencia de madurez sexual relacionada con la deficiencia de la GH o con el síndrome de Turner. Afecta el desarrollo físico y social.

En la **fig. 17.6** se muestra enanismo por un tumor que causa panhipopituitarismo.

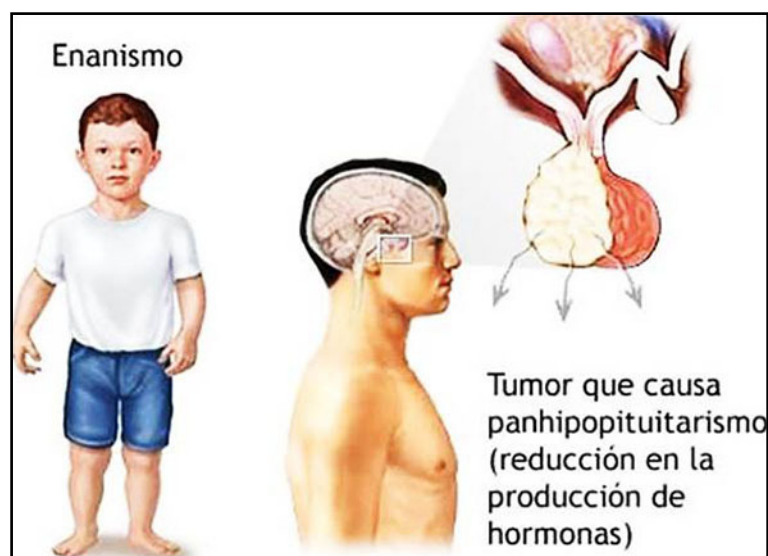


Fig. 17.6 Enanismo (Slideshare).

b. Enanismo desproporcionado. La persona tiene el tronco de tamaño promedio y extremidades muy cortas, pero algunas personas tienen el tronco muy corto, las extremidades cortas, pero desproporcionadamente grandes y la cabeza grande en comparación con el cuerpo. Puede causar:

- Retrasos en el desarrollo de habilidades motrices.
- Otitis recurrentes con riesgo de pérdida de la audición.
- Arqueamiento de piernas.
- Apnea del sueño.
- Presión sobre la médula espinal en la base del cráneo.
- Hidrocefalia.
- Apiñamiento dental.
- Curvatura progresiva de la espalda con dolor y problemas respiratorios.
- Estenosis del conducto vertebral que presiona la médula espinal.
- Artritis.
- Aumento de peso.

La mayoría de las personas con enanismo prefieren que la enfermedad no los etiquete. Algunas personas pueden referirse a sí mismos como personas pequeñas o personas de estatura baja. La palabra *enano* se suele considerar un término ofensivo. Afecta la autoestima de la persona y limitar las oportunidades de éxito escolar o laboral.

El **enanismo** es una anomalía por la que un individuo tiene una estatura inferior al común de su especie. Entre los humanos, suele considerarse persona de talla baja al hombre que mida menos de 1,50 m y en las mujeres a las que miden menos de 1,40 m (por debajo de tres desviaciones estándar de la media de la población).

- Causas de enanismo

a. Acondroplasia.

Es un defecto en la formación del hueso endocranal que se halla en la zona proliferativa. Se caracteriza por presentar extremidades cortas, cabeza grande con relación al cuerpo y frente prominente. En un 90% se debe a una mutación genética. Ocasiona el tipo más común de enanismo.⁵ La acondroplasia es la displasia esquelética no letal más común. El cuidado y el manejo multidisciplinarios de estos pacientes desde muy pequeños colaboran en la prevención y el tratamiento de complicaciones.

b. Cretinismo.

Se produce como consecuencia de una enfermedad de la glándula tiroides. La detección precoz de esta alteración mediante una prueba que se realiza a los niños recién nacidos permite el tratamiento eficaz.

c. Deficiencia de GH.

La alteración de la función endocrina de la hipófisis provoca el llamado *enanismo hipofisario* (proporcionado) que se puede tratar con la GH humana desarrollada por ingeniería genética.

d. Enfermedad celíaca.

Es una enfermedad sistémica autoinmune producida por la ingesta de gluten, que cursa habitualmente sin síntomas digestivos. Estas presentaciones sin los síntomas digestivos clásicos, poco conocidas, hacen que suele pasar sin reconocer ni diagnosticar en la mayoría de los casos, a lo que se suma la frecuente negatividad de los anticuerpos y la ausencia de atrofia de vellosidades en las biopsias duodenales. La baja estatura puede ser el único signo de la presencia de una enfermedad celíaca subyacente.

e. Raquitismo.

Se trata de un trastorno ocasionado por la falta de vitamina D, calcio o fósforo. Se caracteriza por deformidades esqueléticas, crecimiento deficiente y propensión a fracturas óseas, todo ello como consecuencia del descenso de la mineralización de los huesos y cartílagos debido hipofosfatemia e hipocalcemia.

f. Otras causas:

- Tuberculosis de la columna vertebral (enfermedad de Pott).
- Displasia diastrófica.
- Hipocondroplasia.

- Displasia epifisaria múltiple.
- Displasia espondiloepimetafisaria tipo Strudwick.
- Síndrome de Wolf-Hirschhorn.
- Síndrome de Noonan.
- Síndrome de Turner.
- Enanismo tanatofórico
- Osteogénesis imperfecta.
- Mucopolisacaridosis.
- Enanismo primordial.
- Pseudoacondroplasia.

g. Talla baja idiopática

Recibe este nombre, cuando no existe una causa conocida. Las proporciones corporales son normales, tampoco se detectan enfermedades congénitas ni alteraciones de la nutrición o endocrinas. Con frecuencia se asocia a talla baja de los padres.

17.2.2 Acondroplasia

La *acondroplasia* es la forma más común de condrodiplosia. La acondroplasia es un trastorno *genético* óseo humano de la placa de crecimiento y es la forma más común de estatura baja desproporcionada hereditaria. Su principal rasgo físico es el de las *extremidades cortas*, mientras que el tronco es de tamaño promedio (**fig. 17.7**).

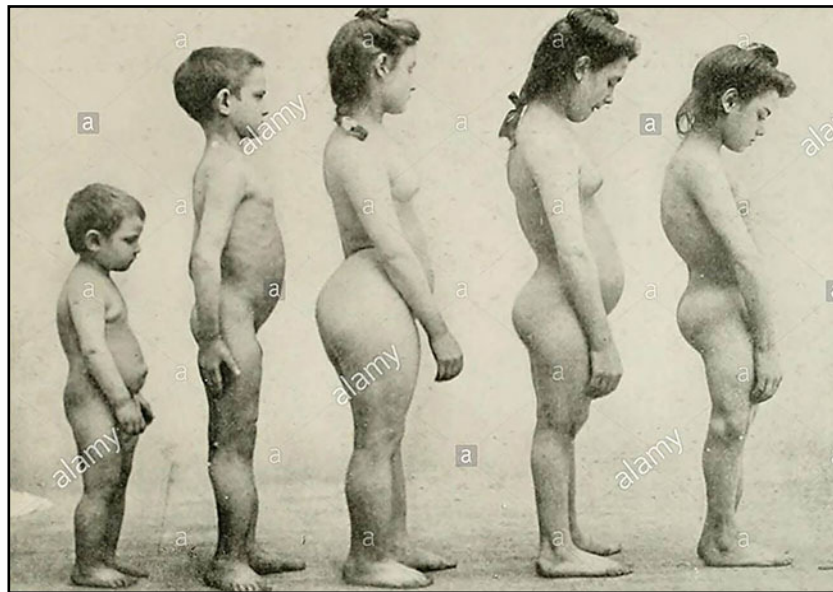


Fig. 17.7 Acondroplasia (alamy).

- Genética

Se han identificado mutaciones activadoras en el gen de la cadena α de **Gs**, el regulador estimulante de la adenilil-ciclasa, en tumores hipofisarios humanos que secretan GH. Se examinaron 25 somatotropinomas para detectar la presencia de mutaciones activadoras. El 40% contenían mutaciones activadoras. Las mutaciones activantes identifican un subgrupo de somatotropinomas que probablemente surgen de un mecanismo oncogénico compartido (Landis y col., 1990).

El 75 % de los casos son nuevas mutaciones y el 25 % restante son trastornos autosómicos dominantes, heredados de los padres. Se produce por una mutación puntual en el gen del receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (**FGFR3**), que es un regulador negativo del crecimiento óseo. El

cuadro se presenta en uno de cada 10.000-30.000 recién nacidos vivos. Se caracteriza por una serie de dismorfias. El diagnóstico fenotípico es evidente en cualquier etapa de la vida, incluso en ocasiones durante el período prenatal (Carter y col., 2007; Horton y col., 2007; Baujat y col., 2008; Bouali y Latrech, 2015). Las personas con mutación genética tienen un 50 % de probabilidades de tener un hijo con este mismo trastorno. Si dos personas con acondroplasia tienen un hijo, existe un 50 % de probabilidades de que este herede la anomalía, un 25 % de probabilidades de tener un bebé de altura promedio y un 25 % de probabilidades de que el bebé tenga lo que se conoce como doble dominancia de la acondroplasia. Esta última es, en todos los casos, fatal en la infancia. La estatura esperada para las personas con acondroplasia es de 131 cm para los hombres y de 123 cm para las mujeres; sin embargo, la estatura puede ser tan corta como 62,8 cm. Una característica distintiva del síndrome es el *gibbus toracolumbar* en la infancia.

- Clínica del enanismo

- Estatura baja (enanismo desproporcionado).
- Macrocefalia con protuberancia frontal.
- Hipoplasia de la región maxilar.
- Extremidades cortas, piernas arqueadas.
- Dedos en tridente.
- Cifosis (*gibbus*) tóraco-lumbar.
- Huesos ilíacos cuadrados.
- *Foramen magnum* estrecho.
- Otitis media recurrente.
- Desarrollo cognitivo normal.
- Obesidad.

La obesidad es un problema de salud importante en la acondroplasia. Los índices de masa corporal, el peso al cuadrado de la estatura (W/H^2) y las mediciones del pliegue cutáneo del tríceps muestran que la obesidad es común. Comienza en la primera infancia y prevalece en todas las edades. Recomendamos que el peso se controle de cerca en todas las personas con acondroplasia y que se instituya una intervención dietética siempre que los índices de masa corporal y las mediciones del pliegue cutáneo del tríceps superen el percentil 95 (Hecht y col., 1988).

- Mortalidad (Hecht y col., 1987)

Se determinaron las tasas de mortalidad estandarizadas para una cohorte histórica de individuos acondroplásicos. La mortalidad aumentó en todas las edades, con una mortalidad estandarizada general de 2,27.

- a. *Muerte súbita*: representó el exceso de muertes en los menores de 4 años y la compresión del tronco encefálico se identificó como la causa de la mitad de estas muertes.
- b. *Causas respiratorias y del SNC*: no aumentaron significativamente, pero representaron la mitad de las muertes entre los 5-24 años de edad y no aumentaron para los > de 34 años.
- c. *Causas cardiovasculares*: aumentaron en el grupo de edad de 25 a 54 años.
- d. Anomalías óseas:
 - *Estenosis del canal espinal*: estuvo presente en la mayoría de las personas.
 - *Foramen magnum* estrecho.(Hecht y col., 1987).

- Tratamiento del enanismo

Los trastornos del crecimiento con enanismo hipofisotrófico fueron tratados con GH humana con respuesta favorable (Moncada Lorenzo y col., 1975; Rybak y col., 1976).

El tratamiento de la acondroplasia con r-hGH mejoró la posición de los niños acondroplásicos en relación con sus compañeros normales. Una edad temprana al inicio de la terapia evitó que se acumulara el característico déficit de altura (Ramaswami y col. 1999). En niños con acondroplasia, el tratamiento con rhGH aumentó la Ht de -5,0 a -4,0 SDS durante 5 años (Miccoli y col., 2016). El alargamiento femoral mediante la técnica de Icatme en acondroplásicos modifica la estática de la columna lumbar. El procedimiento corrige la hiperlordosis lumbar y previene la aparición de sintomatología neurológica por estenosis del canal lumbar (Gómez Prat y col., 2001). Otros posibles tratamientos futuros incluyen la inhibición química de la señalización del receptor, el bloqueo por anticuerpos de la activación del receptor y la alteración de las vías que modulan la propagación aguas abajo de las señales de FGFR3 (Horton y co., 2007).

Se comunicaron una serie de tratamientos desde el enfoque de alargamiento quirúrgico de la extremidad y el tratamiento con hormona de crecimiento recombinante (rhGH), hasta tratamientos futuros, que incluyen el péptido natriurético tipo C (CNP) (Bouali y Latrech, 2015).

Tratamientos complementarios: *fisioterapia, psicomotricidad y terapia ocupacional, logopedia, seguimiento dietético y apoyo psicológico*

17.3 Diabetes insípida (DI)

Cursa con aumento de la secreción de **vasopresina (AVP) u hormona antidiurética (ADH)**: nonapéptido sintetizado en los *núcleos supraóptico y paraventricular*. Después de su almacenamiento como una preprohormona en gránulos citoplasmáticos es transportada a lo largo de los axones en la eminencia media hasta la *neurohipófisis*, donde se transforma en la hormona nativa. Una vez liberada se une a receptores específicos **V2** localizados en la porción basal de las células del túbulo colector renal. La interacción da lugar al desplazamiento a la membrana apical de la **acuaporina 2** preformada en el citoplasma y a la reabsorción pasiva de agua. La **ADH** se halla regulada por la osmolalidad plasmática (Osm_p) y el volumen circulante efectivo. El sodio es el catión predominante en el compartimento extracelular y el principal determinante de la osmolalidad plasmática. Pequeños cambios en la concentración de sodio en el suero modifican la secreción de **ADH**. Los osmorreceptores hipotalámicos mantienen la Osm_p en un rango entre 280-290 mOsm/kg al modificar la secreción de **ADH**, que se halla inhibida por debajo de 280 mOs/kg (Verbalis, 2003).

- Epidemiología

La DI transitoria es una complicación perioperatoria de la cirugía hipofisaria muy frecuente, aunque su incidencia depende del grado de sospecha clínica y de los criterios diagnósticos empleados. Se comunicó la presencia de poliuria en el postoperatorio inmediato en el 31% de 1.571 pacientes intervenidos de adenoma hipofisario. En un estudio prospectivo controlado realizado en 57 pacientes intervenidos de adenoma hipofisario presentaron DI aislada el 38% y combinada (DI seguida de hiponatremia) el 15,7%⁴. La DI persistente, sin embargo, es poco frecuente (0,25 y 2%) (Hensen y col, 1999; Nemergut y col., 2005).

- Factores que incrementan el riesgo de su aparición:

- Edad joven.
- Sexo masculino.
- Tamaño tumoral: más frecuente en macroadenomas.
- Fístula de líquido cefalorraquídeo intraoperatoria.
- Tipo histológico: quistes de la bolsa de Rathke y craneofaringiomas. También corticotropinomas, aunque esto no se ha confirmado en otras series (Hannon y col., 2012). Suele aparecer a las 24-48hs de la cirugía y resolverse durante los 10 días siguientes (Kristof y col., 2009).

Se produce por disfunción transitoria de las neuronas productoras de **AVP** como consecuencia del traumatismo ocasionado por la manipulación quirúrgica o por reducción del aporte sanguíneo al tallo y

la hipófisis posterior. Se resuelve cuando dichas neuronas recuperan su función normal (Dumont y col., 2005; Lon y Verbalis, 2007). En la **Fig. 17.8** se muestra el receptor de **HAD (AVP)** en el túbulo colector renal y las acuaporinas.

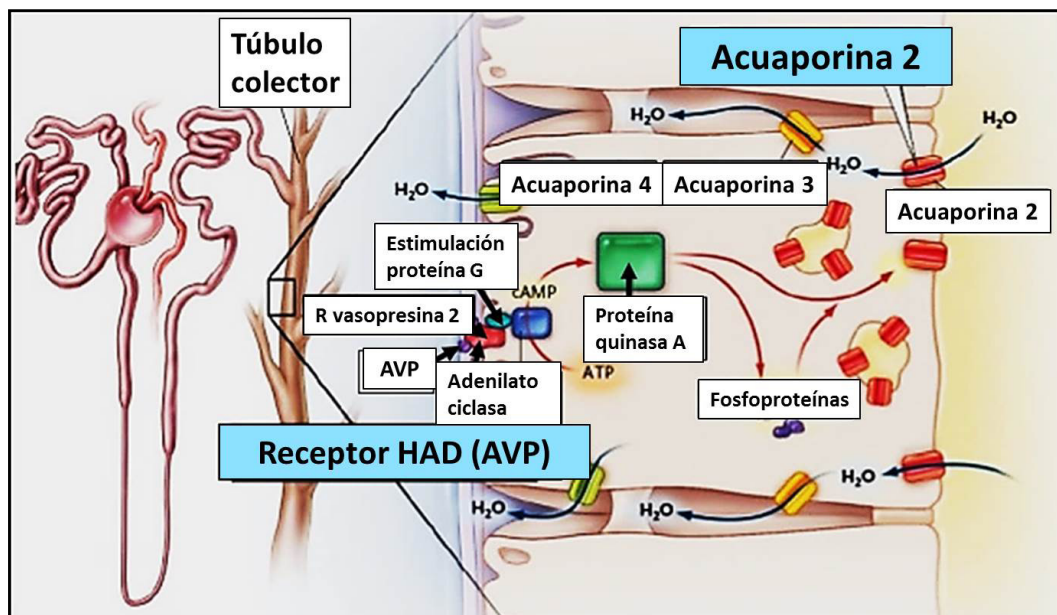


Fig. 17.8 DI, receptor HAD (AVP) y acuaporinas (Slideshare).

- Clínica

Diabetes insípida permanente.

Se produce cuando más del 80-90% de las neuronas hipotalámicas productoras de **AVP** degeneran. Es relativamente infrecuente (1,1% de los pacientes operados). Se caracteriza por 3 fases consecutivas:

- a. *Primera fase:* 5-7 días de duración.
- b. *Segunda fase:* de duración variable (2-14 días) de antidiuresis inapropiada (SIADH) debida a liberación incontrolada de **HAD** desde las terminaciones nerviosas degeneradas en la hipófisis posterior, con tendencia a la hipoonatremia e hipoosmolalidad.
- c. *Tercera fase:* consiste en la reparación de **DI**, que con frecuencia es permanente, una vez que los depósitos de **HAD** se han agotado y el número de neuronas capaces de sintetizarla es insuficiente (Burton y Nemergut, 2006; Ausiello y col., 2008)

Es típica la aparición de *poliuria* y *polidipsia*. Clásicamente se describe un ansia por beber agua fría. Si no se reponen los líquidos adecuadamente por vía oral o parenteral puede aparecer depleción de volumen e hiperosmolalidad y ello conducir al desarrollo de una sintomatología neurológica: irritabilidad, letargia, confusión y coma.

La diabetes insípida (DI) se caracteriza por una *poliuria hipotónica* mayor de 3 litros/24 hs en adultos y que persiste incluso durante la privación de agua.

- a. **DI central:** defecto en la síntesis de la ADH.
- b. **DI nefrogénica (DIN):** es causada por una respuesta inadecuada del riñón a la ADH lo que conduce a una disminución de la capacidad para concentrar la orina que resulta en poliuria y polidipsia. El diagnóstico clínico de DIN se basa en la demostración de una capacidad subnormal para concentrar la orina a pesar de la presencia de AVP. La DIN se adquiere secundaria a trastornos renales, desequilibrio electrolítico y diversos fármacos. Las formas congénitas de DIN son raras y más comúnmente se heredan de una manera ligada al cromosoma X con mutaciones del receptor AVP tipo 2 (**AVPR2**). Las mutaciones del canal de agua acuaporina-2 (**AQP2**) pueden detectarse en formas autosómicas recesivas o dominantes de DIN (Devuyst, 2012).
- c. **DI gestacional:** destrucción temprana de la ADH por enzimas placentarias.

La diabetes insípida (DI) es un trastorno del equilibrio hídrico caracterizado por *poliuria* y *polidipsia*. Puede ocurrir debido a causas genéticas y adquiridas que afectan la secreción o acción de la ADH. Un

aumento marcado de la sed y la micción no solo son bastante angustiantes sino que también aumentan el riesgo de hipovolemia e hipernatremia en casos graves. Un diagnóstico cuidadoso del tipo de DI y su etiología se basa en una evaluación clínica cuidadosa, la medición de la osmolalidad urinaria/sérica y la prueba de privación de agua (Gagan Priya y col., 2021).

Diagnóstico

- **Laboratorio:** poliuria hipotónica: osmolalidad urinaria (Osm_u) < 100 mOsm/kg (o una densidad específica < 1.005).
- **Prueba con suero salino hipertónico:** (0,05ml/kg/min durante 2hs o hasta alcanzar una Osm_p de 300 mOsmol/kg) para determinar la liberación de AVP y la sed en respuesta a un incremento de la Osm_p . Se realiza control de natremia, Osm_p y AVP cada 30min y natriuria y Osm_u cada hora. Se registran también la tensión arterial y la sensación de sed mediante una escala analógica visual (Sinha y col., 2011).
- **Prueba con sobrecarga de agua:** (30ml/kg de agua por vía oral durante 15min) para evaluar la supresión de la liberación de AVP a un estímulo hipotónico en las 4h siguientes (Ball y col., 1997).
- **Prueba de liberación de AVP:** a estímulo no osmótico mediante hipotensión farmacológica (Ball y col., 1997).

DI en el postoperatorio de la cirugía hipofisaria

La DI se produce como consecuencia de una disminución o ausencia de ADH. Durante la cirugía hipofisaria se puede afectar alguno de los niveles de producción y/o liberación de la ADH producir DI:

- Poliuria, polidipsia, sed en las 24-48 hs después de la cirugía.
- Diuresis: 4-18 l/día.
- Hipovolemia.
- Natremia normal o aumentada.
- Osmolalidad urinaria: < 100 o inferior a la plasmática.

RNM hipofisaria: investiga la falta de señal de hiperintensidad espontánea en la hipófisis posterior, que marca la ausencia de HAD y respalda el diagnóstico de DI central. Reconoce lesiones de la pituitaria o del tallo hipofisario.

- **Prueba de desmopresina.**

- **Prueba de privación de agua:** demuestra la incapacidad para obtener una concentración máxima de orina es valiosa.

En las formas graves de DI, la osmolalidad de la orina permanece por debajo de 250 mOsmol/kg y el sodio sérico por encima de 145 mmol/L. En las formas parciales de DI (osmolalidad urinaria entre 250 y 750). La DI central adquirida de inicio súbito debe sugerir un craneofaringioma o germinoma si ocurre antes de los 30 años y metástasis después de los 50 años. El 15 a 20% de los traumatismos craneoencefálicos provocan hipopituitarismo, incluida la DI en el 2% de los casos. La DI transitoria o permanente está presente en el 8-9% de las cirugías endoscópicas transfenoidales (Leroy y col., 2013).

- Tratamiento de la diabetes insípida

El objetivo del tratamiento es asegurar el mantenimiento de la homeostasis osmótica.

En la mayoría de casos, leves y transitorios, no se necesita ningún tratamiento específico. Si el paciente está consciente y tiene la sensación de sed conservada la propia sed es la mejor guía de las necesidades de ingesta de agua y es recomendable una monitorización.

Si el paciente es incapaz de reponer por vía oral las pérdidas urinarias, por intolerancia a la ingesta oral o inadecuada percepción de la sed, el balance hídrico se puede mantener mediante sueroterapia endovenosa. La deficiencia de agua puede ser estimada con la siguiente fórmula matemática: $0,6 \times \text{peso corporal (kg)} \times ([Na \text{ sérico} \div 140] - 1)$. Se sugiere hacer una determinación de electrolitos en suero cada 6-8hs para comprobar que el aporte de líquido es apropiado (Loh y Verbalis, 2007).

El tratamiento farmacológico se reserva para los casos en que la poliuria es excesiva o si aparece hipernatremia. La *desmopresina (DDAVP)*, un análogo de AVP que interacciona con los receptores V2 es el fármaco de elección. Su administración consigue una rápida reducción de la diuresis. Puede ad-

ministrarse por vía subcutánea (dosis de 1-2µg), muy usada en el postoperatorio inmediato, intranasal (10µg) u oral (0,1mg). Dado que la DI posquirúrgica suele tener un curso breve, lo más frecuente es que, de usarse, sea necesaria una única dosis (Singer y Sevilla, 2003; Burton y Nemergut, 2006) Mediante la monitorización de la diuresis, la natremia y la osmolalidad urinaria, se irá comprobando la corrección de la DI y ello permitirá decidir si es necesario administrar más dosis, si persiste la poliuria, y teniendo en cuenta que un exceso de tratamiento puede conducir a retención hídrica e hiponatremia y que la DI puede ir seguida de hiponatremia por *secreción inadecuada de ADH (SIADH)* (Ausiello y col., 2008).

La DI central debido a la secreción alterada ADH podría resultar de una lesión cerebral traumática, cirugía o tumores, mientras que la DI nefrogénica debido a la falla del riñón para responder a la ADH generalmente se hereda. El primer tratamiento consistió en extractos de hipófisis posterior que contenían *vasopresina* y *oxitocina*. El análogo sintético de la vasopresina, la *desmopresina*, tiene varios beneficios sobre la vasopresina. La desmopresina estaba disponible como preparación intranasal, pero ahora hay comprimidos orales que facilitan su administración. Otras moléculas utilizadas para el tratamiento incluyen *clorpropamida*, *carbamazepina*, *diuréticos tiazídicos*, *indapamida*, *clofibrato*, *indometacina* y *amilorida*. Sin embargo, la *desmopresina* sigue siendo el fármaco más utilizado para el tratamiento de la DI (Kalra y col., 2016).

- Tratamiento de la DI en el postoperatorio de la cirugía hipofisaria

- *Desmopresina* (SC-IV). Dosis inicial: 1-2µg.
- *Mantenimiento del balance hídrico*: si el paciente es incapaz de mantener una osmolalidad plasmática y una concentración sérica de sodio normal, suplementar con soluciones hipotónicas IV (suero glucosado al 5%, seguido por suero glucosalino 0,45%).
- *Tratamiento sustitutivo del eje hipotálamo-hipofiso-suprarrenal*: administrar dosis de estrés de glucocorticoides (hidrocortisona 50-100mg IV cada 8hs), pasando a dosis de mantenimiento por vía oral (15-30mg/d). Se mantendrá esta dosis hasta que la función de la hipófisis anterior pueda ser evaluada (Loh y Verbalis, 2007; Ausiello y col., 2008).

- DI con adipsia/hipodipsia

La aparición simultánea de DI con alteración de la sed puede suceder cuando la cirugía daña los osmorreceptores hipotalámicos que regulan la sed y la secreción de AVP. Es muy poco frecuente pero entraña grandes dificultades de manejo y elevada morbimortalidad. La causa tumoral más frecuente es el craneofaringioma. En ocasiones los centros productores de AVP están íntegros (responden con liberación de AVP ante estímulo hipotensor inducido por fármacos) y la AVP se libera de forma continua en pequeñas cantidades independiente de la natremia y la osmolalidad plasmática. Cuando la lesión hipotalámica es más extensa se pierde la sed y no hay secreción de AVP en respuesta a ningún estímulo, incrementándose el riesgo de deshidratación y de hipernatremia grave (Crowley y col., 2007).

Si falta la sensación de sed el paciente se halla en riesgo de presentar deshidratación e hipernatremia. Por el contrario, la ingesta excesiva de líquidos cuando la AVP no se suprime, o durante el tratamiento con análogos de AVP, puede favorecer la intoxicación acuosa y la hiponatremia. Los pacientes oscilan entre estas 2 situaciones que, por otra parte, son clínicamente difíciles de diferenciar, ya que ambas pueden causar somnolencia, debilidad, irritabilidad, náuseas, vómitos, convulsiones y coma (Ball y col., 1997; Ghirardello y col., 2006). Con frecuencia, los pacientes se mantienen en una hipernatremia crónica moderada, bien tolerada, durante largos periodos. Con cierta frecuencia se presentan trombosis venosas, favorecidas por dicha hipernatremia crónica.

La DI suele ser permanente, pero la alteración de la sed puede mejorar o inclusive desaparecer, generalmente en los primeros 9 meses tras la cirugía, e indica que los osmorreceptores de la sed, a diferencia de los centros productores de AVP, mantienen capacidad de recuperación. Transcurrido un año de la intervención la recuperación es excepcional (Sinha y col., 2011).

- Tratamiento de la DI con adipsia (Ball y col., 1997; Crowley y col., 2007)

- Establecer el peso en el que el paciente está euvolémico y normonatremico.

- Fijar una diuresis de 24h en 1,5-2l y establecer dosis de desmopresina para esta finalidad.
- Ingesta obligada de líquidos: 1,5 a 2l.
- Peso diario.
- Ingesta diaria de líquidos: 1l = 1kg.
- Determinar sodio plasmático.
- Educar al paciente y a la familia.

Puede ser recomendable la profilaxis antitrombótica con heparina de bajo peso molecular, al menos durante los episodios de deshidratación hipernatémica.

- Secreción inadecuada de ADH (SIADH) en el postoperatorio de la cirugía hipofisaria

La **SIADH** es una complicación relativamente frecuente de la cirugía transesfenoidal. La hiponatremia de cualquier causa aparece en el 13-35% de los pacientes sometidos a cirugía transesfenoidal, siendo sintomática en el 2-7%. La variabilidad referida probablemente se debe a que pasa a menudo desapercibida, pues los síntomas son habitualmente leves e inespecíficos y pueden estar presentes también en los pacientes con normo o hipernatremia¹⁶. Algunas de estas series quirúrgicas han intentado acotar mejor la incidencia de SIADH, distinguiéndola de otras entidades que cursan con hiponatremia, obteniendo porcentajes solo ligeramente menores (Sane y col., 1994; Kelly y col., 1995; Taylor y col., 1995; Olson y col., 1997; Ionescu y col., 2003); Sata y col., 2006; Zada y col., 2007).

- Patrones de secreción inadecuada de ADH

La **SIADH** luego de una cirugía hipofisaria se atribuye a una liberación no controlada de AVP por parte de las neuronas hipotalámicas secretoras en de degeneración. También puede ocurrir que la **SIADH** sea secundaria a otras complicaciones de la cirugía: meningitis, hemorragias intracraneales, etc. El exceso relativo de AVP da lugar a una orina concentrada, con disminución del volumen urinario y Osm_u (el paciente continúa bebiendo o recibiendo líquidos vía IV). El manejo renal de sodio permanece intacto, gracias al correcto funcionamiento del eje renina-angiotensina-aldosterona, el péptido natriurético auricular y otros factores natriuréticos: por ello, cualquier expansión del volumen plasmático provoca eliminación renal de sodio y agua, lo que mantiene un estado euvolémico (Singer y Sevilla, 2003). Dentro de la **SIADH** se han descrito varios patrones de respuesta de la AVP a los cambios de osmolalidad plasmática. No se ha conseguido encontrar una correspondencia entre los diferentes patrones y causas que subyacen a la **SIADH**, ni se dispone de estudios que hayan evaluado qué patrón predomina tras la cirugía hipofisaria (Hannon y Thompson, 2010).

- Manifestaciones clínicas de la SIADH

La **SIADH** ocurre habitualmente entre los días cuarto y décimo del postoperatorio. Cursa de manera asintomática o con síntomas leves en la mayoría de los casos y se suele diagnosticar por hiponatremia encontrada en los análisis de control postoperatorio. Los síntomas se deben a la hipoosmolalidad plasmática, y al consiguiente edema celular; su gravedad depende de la intensidad de la hiponatremia, así como de su velocidad de instauración. La hiponatremia, que en ocasiones se asocia a complicaciones graves o muerte por edema cerebral, puede ser bien tolerada si el organismo, y en concreto las células del sistema nervioso central, han tenido tiempo de adaptarse liberando otros osmoles y manteniendo así una Osm_p similar a la extracelular para evitar el edema (Cole y col., 2004).

La presencia de otras alteraciones metabólicas (hipoxia, acidosis, hipercalcemia) pueden elevar el umbral de natremia asociado a la aparición de síntomas.

Síntomas más frecuentes: cefalea, irritabilidad, dificultad de concentración, debilidad y náuseas). Hiponatremias moderadas: vómitos, hiponatremia, desorientación, confusión, agitación, calambres musculares y anorexia. Casos más graves: disminución del nivel de conciencia hasta llegar al coma, crisis convulsivas, afectación extrapiramidal, herniación del tronco del encéfalo y muerte. Aunque no hay estudios específicos en pacientes sometidos a cirugía hipofisaria, se supone que estos riesgos son similares a los de otros

- Diagnóstico de SIADH

La mayor parte de las hiponatremias e hipernatremias son asintomáticas o presentan síntomas inespecíficos. Se sugiere determinar iones en sangre a las 6-8h de la intervención y después, si se mantienen en el rango normal, diariamente hasta el alta. El diagnóstico de **SIADH** puede establecerse en un paciente con hiponatremia (concentración de sodio sérico $<135\text{mmol/l}$) e hipoosmolalidad plasmática (osmolalidad $<275\text{ mOsm/kg}$), orina inadecuadamente concentrada en relación con la osmolalidad plasmática ($>100\text{ mOsm/kg}$), con concentración de sodio en orina elevado ($>40\text{mmol/l}$), con ingesta normal de sodio, en presencia de volumen extracelular normal y una vez descartadas la insuficiencia renal y las deficiencias de glucocorticoides y hormonas tiroideas (Ellison y Berl, 2007, Sherlock y Thompson, 2010).

Diagnóstico de SIADH en el postoperatorio de la cirugía hipofisaria.

- Signos y síntomas: con frecuencia asintomático.
- Casos leves: cefalea, irritabilidad, dificultad de concentración, debilidad, náuseas.
- Casos moderados: desorientación, confusión, agitación, calambres musculares, anorexia.
- Casos graves: disminución de la conciencia/coma, crisis convulsivas, afectación extrapiramidal.
- Natremia $<135\text{mmol/l}$.
- Osmolalidad sérica $<275\text{ mosm/kg}$.
- Osmolalidad urinaria $>100\text{ mosm/kg}$ en presencia de hipoosmolalidad sérica. Sodio en orina $>40\text{mmol/l}$.

- Tratamiento de la SIADH

Aunque no se dispone de estudios que comparen distintas estrategias de tratamiento y monitorización de la **SIADH**, el abordaje actual es relativamente similar en distintos centros, tal y como se desprende de trabajos publicados sobre el tema, y goza de amplia aceptación (Velasco y Runkle, 2010, Verbalis, 2010).

Ante la duda entre **SIADH** y un síndrome perdedor de sal se sugiere infundir suero salino fisiológico y reevaluar al paciente: si se produce una clara mejoría en la natremia, muy probablemente el paciente presentaba depleción de volumen y de solutos, pero si se trataba de **SIADH** lo más probable es que el paciente elimine el exceso de agua y sodio recibido, pero no se modifique su osmolalidad o incluso empeore si la osmolalidad urinaria es muy elevada (Steele y col., 1997).

Si la hiponatremia es aguda, lo que se define como de menos de 48 hs de duración, el riesgo de edema cerebral y herniación del tronco del encéfalo es grande, pues el cerebro no tiene tiempo de adaptarse y eliminar solutos intracelulares y el riesgo de mielinolisis es pequeño. Por el contrario, si la hiponatremia es crónica ($>48\text{hs}$), las manifestaciones neurológicas serán menores y el riesgo de una rápida corrección mucho mayor. El SDO es la complicación más grave de una corrección rápida. Se trata de una degeneración de la mielina en el SNC que afecta al tronco del encéfalo, ganglios basales, cuerpo calloso e hipocampo y que conlleva una alta morbimortalidad. Se manifiesta con disartria, paraparesia o cuadriparesia espástica o parálisis pseudobulbar. El diagnóstico puede confirmarse mediante RM, aunque las imágenes características pueden tardar en aparecer días o incluso pocas semanas. En los pacientes asintomáticos con hiponatremias leves, por encima de 125 mmol/l , suele ser suficiente con restringir la ingesta de líquidos a menos de 1.000ml y liberalizar la ingesta de sal. La principal dificultad en la aplicación de este tratamiento es que los pacientes continúan sintiendo sed pese a la hipoosmolalidad, y a veces se sienten incapaces de cumplir la restricción (Verbalis y col., 2007).

Si el paciente está asintomático o con síntomas mínimos con hiponatremia moderada ($120\text{-}125\text{mmol/l}$) se debe suponer que se trata de una hiponatremia crónica y se debe corregir lentamente. Se recomienda prescribir una restricción hídrica (RH) (menos de 500 ml diarios) o infundir suero salino hipertónico (3%) para aumentar la natremia a un ritmo de $0,5\text{mmol/l/h}$. Se aconseja esta misma actitud en algunos casos con hiponatremias más profundas, en pacientes poco sintomáticos en los que se sospecha que la hiponatremia es de larga evolución y en los que el ritmo de corrección debe ser aún más lento.

Si el paciente está sintomático, por ejemplo con disminución progresiva del nivel de conciencia o convulsiones, o si se sabe que la hiponatremia se ha instaurado de forma aguda, recomendamos infun-

dir suero hipertónico. Si la administración de suero origina una sobrecarga de volumen se recomienda asociar *furosemida*.

En la práctica se puede emplear la siguiente fórmula para predecir el incremento de natremia que se producirá en respuesta a la infusión de una determinada cantidad de suero: aumento esperado en la natremia (mmol/l) (tras administrar 1.000 ml de suero) = (sodio infundido [mmol/l] - sodio sérico [mmol/l])/agua corporal total (l) + 1.

Sea cual sea la rapidez de corrección elegida se sugiere interrumpir el tratamiento agudo cuando:

- 1) se resuelven los síntomas del paciente.
- 2) se alcanza una natremia segura (120mg/dl).
- 3) se alcanza una magnitud total de corrección de 10-12mmol/l en 24h o 18mmol/l en 48h (Schrier y col., 2006, Verbalis, 2010, 2007).

Se recomienda que el control analítico inicial se haga a las 2-4h. La fórmula de Furst ($(Na^+_o + K^+_o) / Na^+_p$) nos ayuda a tomar decisiones en los casos leves y moderados, ya que nos permite predecir la efectividad de la RH: si el resultado de la fórmula es >1 el paciente no está eliminando agua libre por vía renal, y no es de esperar que mejore con RH (Furst y col., 2000). Aunque existen diversos fármacos (*demeclociclina, litio o urea*), utilizados para el tratamiento de la SIADH, ninguno de ellos ha sido evaluado en ensayos clínicos controlados en el postoperatorio de la cirugía transesfenoidal. Es probable que sean desplazados por los antagonistas no peptídicos del receptor V2 de la AVP o *vaptanes* (Villabon, 2010), que actúan como acuaréticos puros, promoviendo la liberación de agua libre, sin afectar a los solutos, a diferencia de los diuréticos que promueven la eliminación de ambos. No ha sido estudiado específicamente en el contexto de la cirugía hipofisaria los resultados de los ensayos clínicos indican que es eficaz y seguro en la corrección de la hiponatremia dilucional (Berl y col., 2010). También puede emplearse en la SIADH crónica, pero esta complicación es muy infrecuente tras la cirugía transesfenoidal.

Cada vez es más habitual el alta precoz de los pacientes sometidos a cirugía transesfenoidal a los 3 o 4 días de la intervención. El momento de mayor incidencia de SIADH es pasada la primera semana, por lo que en muchos casos se va a poner de manifiesto ya en el domicilio. Por ello se aconseja que se den recomendaciones al alta de restringir moderadamente la ingesta de líquidos pero no la de sal.

17.4 Síndrome de Cushing (SC) y enfermedad de Cushing (EC)

El control fisiológico de la síntesis de cortisol en la corteza suprarrenal implica la estimulación de la ACTH por la *hormona liberadora de corticotropina hipotalámica (CRH)* y luego la *estimulación de la suprarrenal* por la ACTH. El circuito de control del *eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA)* se cierra por la *retroalimentación negativa* del cortisol en el hipotálamo y la pituitaria.

- **SC endógeno:** es causado por un exceso de secreción de ACTH o por la liberación autónoma de cortisol en la corteza suprarrenal. El exceso de cortisol se debe a:

- a. No alcanzar el nadir normal en el ritmo diurno de cortisol.
- b. Pérdida de sensibilidad de los tumores secretores de ACTH a la retroalimentación negativa del cortisol.
- c. Aumento de la excreción de cortisol libre en la orina.

La diferenciación entre una fuente hipofisaria de exceso de ACTH y una fuente ectópica se logra mediante la obtención de imágenes de la hipófisis (Raff y Carrol, 2015).

A pesar de su baja frecuencia, el SC *endógeno* no es una entidad clínica excepcional. A pesar de su baja especificidad, síntomas como el desarrollo inexplicado de obesidad central, cambios de humor, fatiga, debilidad, miopatía, fácil aparición de hematomas, estrías rojas, hipertensión arterial, diabetes e hiperlipidemia, sugieren el diagnóstico. El verdadero SC debe diferenciarse de los pseudo síndromes. Los signos físicos más sensibles para diferenciar el síndrome de Cushing de los estados pseudo-Cushing son la presencia de almohadillas de grasa supraclaviculares, miopatía, piel fina y fácil formación de hematomas (Bruno y col., 2009).

En la **fig. 17.9** se observa la fisiología del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA).

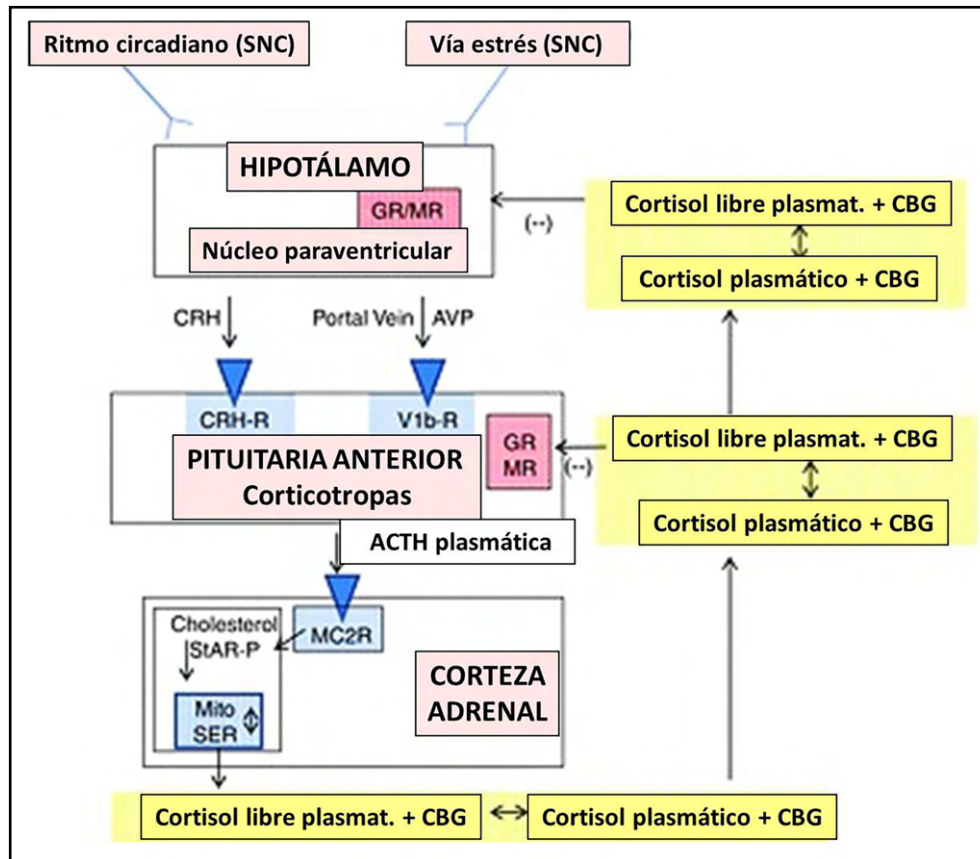


Fig. 17.9 Eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) (Raff y Carol, 2015).

El núcleo supraquiasmático tiene entradas del *ritmo circadiano* y de las *vías de estrés* neural de la *hormona liberadora de corticotropina* (CRH) y ADH en el núcleo paraventricular. CRH y ADH se liberan en capilares en la eminencia media que se fusionan para formar las venas porta y éstos drenan hacia la pituitaria anterior donde se forma otra red capilar. CRH y ADH estimulan las corticotropas en la pituitaria anterior para liberar ACTH que estimula los receptores de melanocortina 2 (**MC2R**), (también conocidos como receptores de ACTH) en las células esteroidogénicas de las zonas fasciculada y reticulada de la corteza adrenal. La unión de ACTH al **MC2R** estimula la producción de **cAMP**, que activa la proteína **StAR** para mediar en el transporte de colesterol hacia las mitocondrias (paso limitante de la esteroidogénesis). El colesterol es el sustrato para el paso inicial de la esteroidogénesis. El cortisol se libera en el plasma donde se une reversiblemente a la globulina transportadora de corticosteroides (**CBG**). El cortisol plasmático unido a CBG circula por todo el cuerpo. En los capilares del tejido diana, se disocia del **CBG** y se difunde hacia la célula diana. La inhibición por retroalimentación negativa del cortisol se ejerce en la hipófisis anterior y el hipotálamo mediante la unión del cortisol a los receptores de glucocorticoides (GR) y mineralocorticoides (MR) (Raff y Carol, 2015).

A. Síndrome de Cushing (SC)

Es un trastorno hormonal causado por la exposición prolongada a un exceso de cortisol, una hormona producida por las glándulas adrenales. Algunas veces, tomar medicinas con hormonas sintéticas para tratar una enfermedad inflamatoria conduce al **SC**. Ciertos tipos de tumores producen una hormona que puede hacer que el cuerpo produzca demasiado cortisol.

El **SC** es un *hipercortisolismo patológico (endógeno o exógeno)* y se asocia con mala calidad de vida, morbilidad y aumento de la mortalidad. La presentación clínica del **SC** depende de la extensión y duración del exceso de cortisol. Cuando el hipercortisolismo es severo, sus signos y síntomas son inconfundibles. Sin embargo, la mayoría de los signos y síntomas del **SC** comunes en la población general (hipertensión y aumento de peso) y no todos están presentes en todos los pacientes. Las características clásicas del exceso de glucocorticoides, como debilidad muscular proximal y estrías anchas de color púrpura, los pacientes pueden presentar las comorbilidades asociadas causadas por hipercortisolismo que incluyen enfermedades cardiovasculares, enfermedad tromboembólica, déficits psiquiátricos y cognitivos e infecciones (Nieman, 2015).

B. Enfermedad de Cushing (EC)

Es una forma del SC, un hipercortisolismo inapropiado persistente que resulta de la *hipersecreción de ACTH hipofisaria* por corticotropinoma. Se representa el 70% de los casos de SC y afecta a mujeres en edad fértil. Se debe documentar el hipercortisolismo endógeno y su causa. La resección transesfenoidal selectiva de los adenomas hipofisarios productores de ACTH es el tratamiento inicial de elección (Aron y col., 1987).

- Clínica

Los pacientes con SC pueden desarrollar múltiples problemas metabólicos que incluyen obesidad, hiperglucemia, hipertensión, depresión, masa ósea baja, atrofia muscular e hipogonadismo. Las manifestaciones cutáneas del hipercortisolismo incluyen atrofia cutánea, hematomas excesivos, estrías púrpuras, mala cicatrización de heridas, plétora facial, hipertrichosis vellosa e hirsutismo (Shibli-Rahhal y col., 2006).

Principales manifestaciones clínicas (**fig. 17.10**).

- Obesidad en la parte superior del cuerpo
- Cara redondeada (cara de luna).
- Brazos y piernas delgados.
- Fatiga severa y debilidad por atrofia muscular.
- Presión arterial alta.
- Hiperglucemia.
- Aparición fácil de hematomas.
- Manifestaciones cutáneas.
- Hipogonadismo.

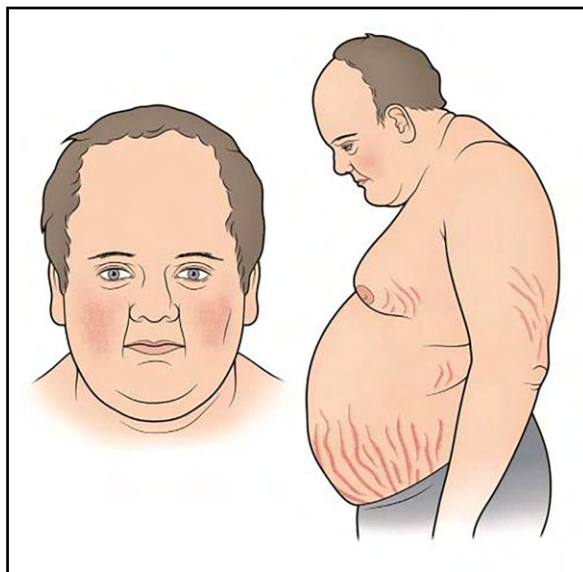


Fig. 17.10 Síndrome de Cushing (Slideshare).

- Diagnóstico

Existen desafíos que complican la evaluación del SC: el aumento de la prevalencia mundial de la obesidad y la diabetes; el aumento del uso de glucocorticoides exógenos, que causan un fenotipo de SC; la confusión causada por el hipercortisolismo no patológico no asociado con el SC que puede presentarse con síntomas compatibles con dicho síndrome y la dificultad para identificar el hipercortisolismo patológico cuando es leve, se asocia a insuficiencia renal o a embarazo (Nieman, 2018).

- **SC exógeno:** es causado por la administración de glucocorticoides.
- **SC endógeno:** se subdivide en dos tipos: dependiente de la ACTH e independiente de la ACTH.
- **SC dependiente de ACTH:** es causado por un corticotropinoma. Más raramente, un tumor no hipofisario (ectópico) puede sintetizar y liberar ACTH. De cualquier manera, la corteza suprarrenal se vuelve hiperplásica y el aumento de la retroalimentación negativa de cortisol suprime la liberación de CRH hipotalámica y de las corticotropas.

Debido a la variabilidad en la expresión clínica del SC se deben utilizar diferentes pruebas bioquímicas y técnicas de imagen para un diagnóstico y tratamiento efectivos. La fase de cribado se basa en pruebas que son sensibles pero no específicas, como cortisol libre en orina y cortisol salival nocturno. La confirmación se puede obtener repitiendo cortisol urinario, supresión de 2 mg/día de dexametasona, tanto solo como combinado con CRH, para excluir estados pseudoCushing. La dependencia de ACTH se puede explorar mediante mediciones de ACTH, pero el diagnóstico diferencial entre la EC hipofisaria y ectópica es difícil y puede requerir procedimientos invasivos como la toma de muestras del seno petroso inferior. Las técnicas de imagenología e isotópicas desempeñan un papel importante en la localización de la fuente de ACTH en los síndromes ectópicos, pero no siempre son eficaces. Las pruebas bioquímicas y de imagen deben combinarse para evaluar diferentes mecanismos y perspectivas del síndrome (Santos y col., 2009).

El muestreo bilateral del seno petroso inferior se realizó con éxito en 12 de 13 pacientes con SC dependiente de ACTH. Diez de los pacientes fueron sometidos a microcirugía hipofisaria transesfenoidal. Se encontró que 8 pacientes en los que la relación entre el nivel de ACTH del seno petroso inferior y la vena periférica era 1,5 o mayor tenían un adenoma hipofisario. Uno de los dos pacientes restantes que tenían proporciones inferiores a 1,5, tenía hiperplasia hipofisaria mientras que el otro no tenía ninguna anomalía identificada. Siempre es necesario un muestreo petroso bilateral. La localización del tumor dentro de la hipófisis solo se predijo de manera deficiente mediante una muestra del seno petroso (4 de 8) o una TC (3 de 8) (McCance y col., 1989). - **SC independiente de ACTH:** la causa suele ser un adenoma benigno que secreta cortisol de forma autónoma. Esto suprime la liberación de CRH y ACTH a través de la retroalimentación negativa y conduce a la atrofia de las células adrenocorticales que sintetizan cortisol por lo demás normales (Raff y Carrol, 2015) (fig. 17.11).

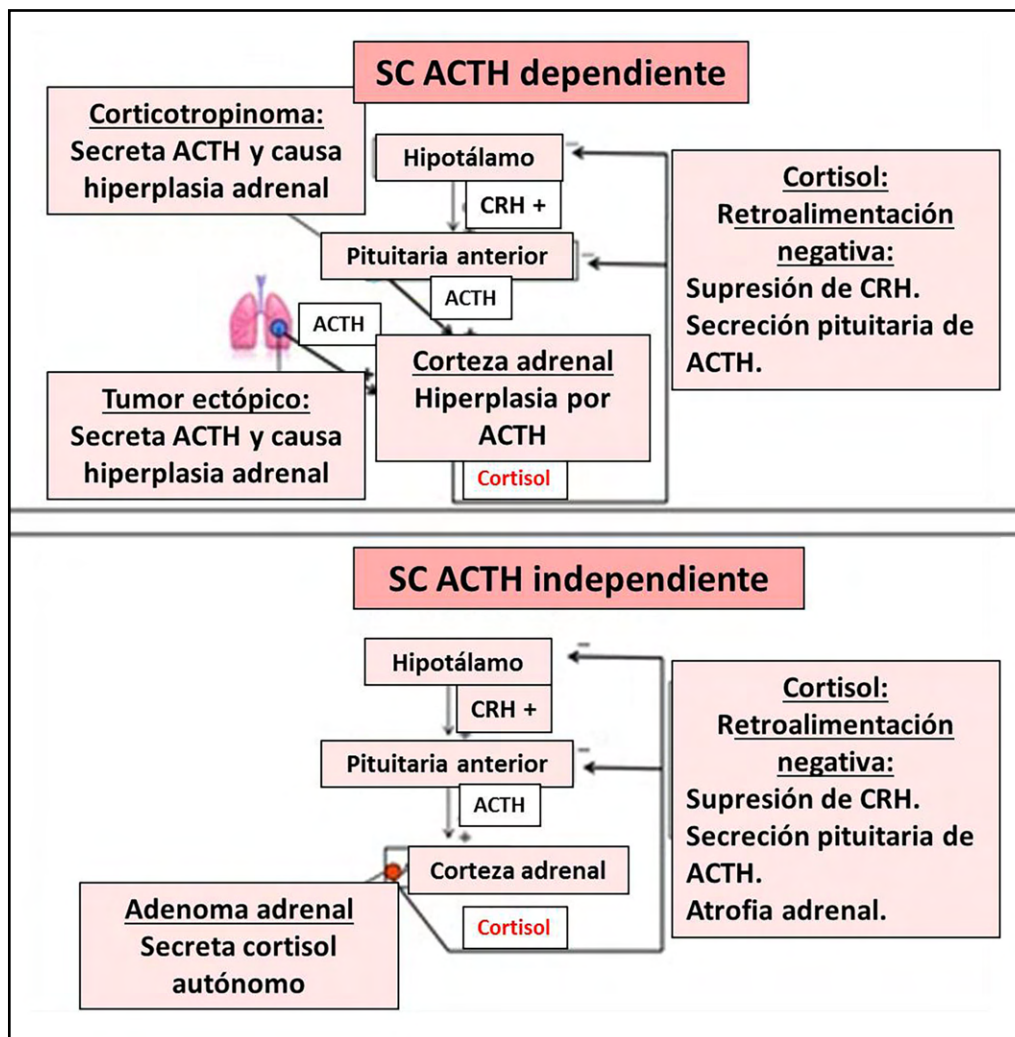


Fig. 17.11 SC dependiente e independiente de ACTH (Raff y Carol, 2015).

- **EC:** causada por un *adenoma hipofisario*, es la forma más común de SC dependiente de ACTH para la cual la RM hipofisaria puede ser diagnóstica, con muestreo bilateral del seno petroso inferior útil en casos dudosos.

- **Producción ectópica de ACTH:** es causada por un *tumor torácico* (ej.: carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoides bronquiales y tímicos o carcinoma medular de tiroides) o un *tumor abdominal* (ej.: tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos o feocromocitoma). La TC, RM y las pruebas de medicina nuclear se utilizan para localizar la fuente de ACTH. En el SC independiente de ACTH, que está causado por diversas anomalías suprarrenales, la TC o RM del protocolo suprarrenal suele ser diagnóstica (Wagner-Bartak y col., 2017). Aunque el diagnóstico de SC puede ser sencillo en los casos floridos debido a su fenotipo típico, las formas más leves pueden pasarse por alto. A pesar de la disponibilidad de diferentes pruebas de detección, el diagnóstico sigue siendo un desafío (Barbot y col., 2020).

En la **fig. 17.12** se resumen las vías que conducen a una mayor proliferación y función de las células sintetizadoras de cortisol en la corteza suprarrenal (Kirschner, 2014).

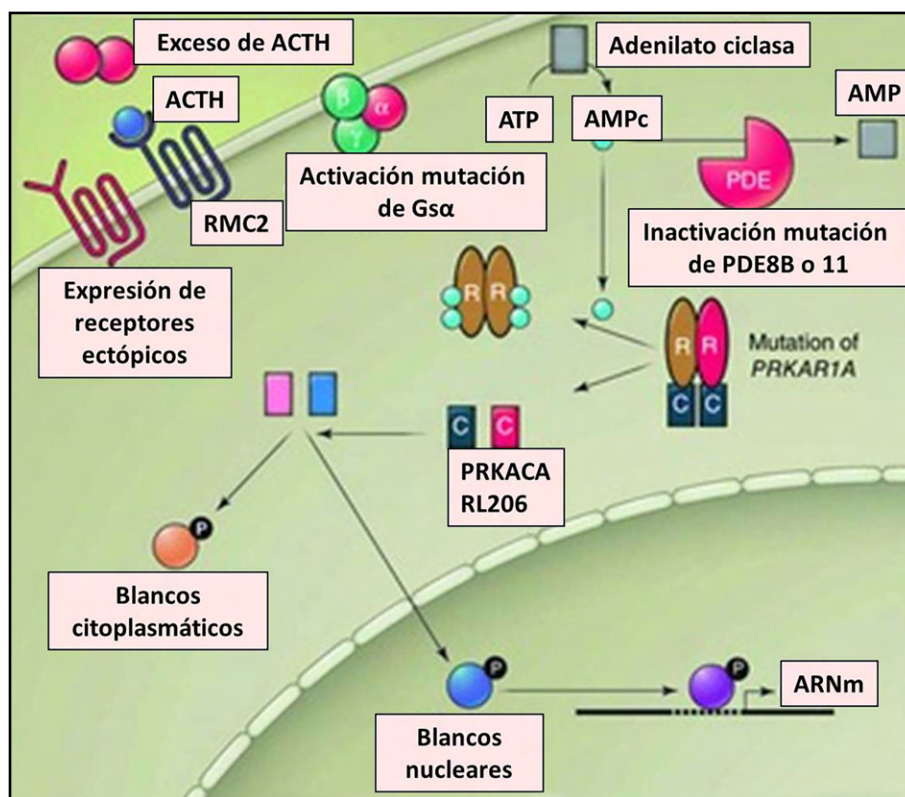


Fig. 17.12 Vías que conducen a las células sintetizadoras de cortisol (Kirschner, 2014).

Los factores asociados con una mayor actividad se muestran en rojo e incluyen un exceso de ACTH que estimula el MC2R. Otras causas independientes de ACTH incluyen la expresión de receptores a otros secretagogos, la activación de la mutación de la subunidad de la proteína G **Gs-alfa**, la inactivación de las mutaciones de las fosfodiesterasas PDE8B u 11, una mutación de **PRKAR1A** (complejo de Carney) y mutaciones en la subunidad catalítica de la proteína quinasa A (**PRKACA**).

El SC *independiente de ACTH* (suprarrenal) es causado por tumores o hiperplasia de la corteza suprarrenal. La secuenciación del exoma reveló mutaciones somáticas en **PRKACA**, que codifica la subunidad catalítica de la proteína quinasa dependiente de AMPc. Se identificaron mutaciones somáticas de **PRKACA** en 22 de 59 adenomas unilaterales (37%) de pacientes con SC. Entre 35 pacientes con hiperplasias productoras de cortisol, 5 tenían una duplicación en el número de copias de la línea germinal de la región genómica en el cromosoma 19 que incluye **PRKACA**. Se comunicó que las alteraciones genéticas de la

subunidad catalítica de **PKA** están asociadas con la enfermedad humana. Las duplicaciones de la línea germinal de este gen dieron como resultado hiperplasias suprarrenales bilaterales, mientras que las mutaciones somáticas de **PRKACA** dieron como resultado adenomas suprarrenales productores de cortisol unilaterales (Beuschlein 2014) (fig. 17.13).

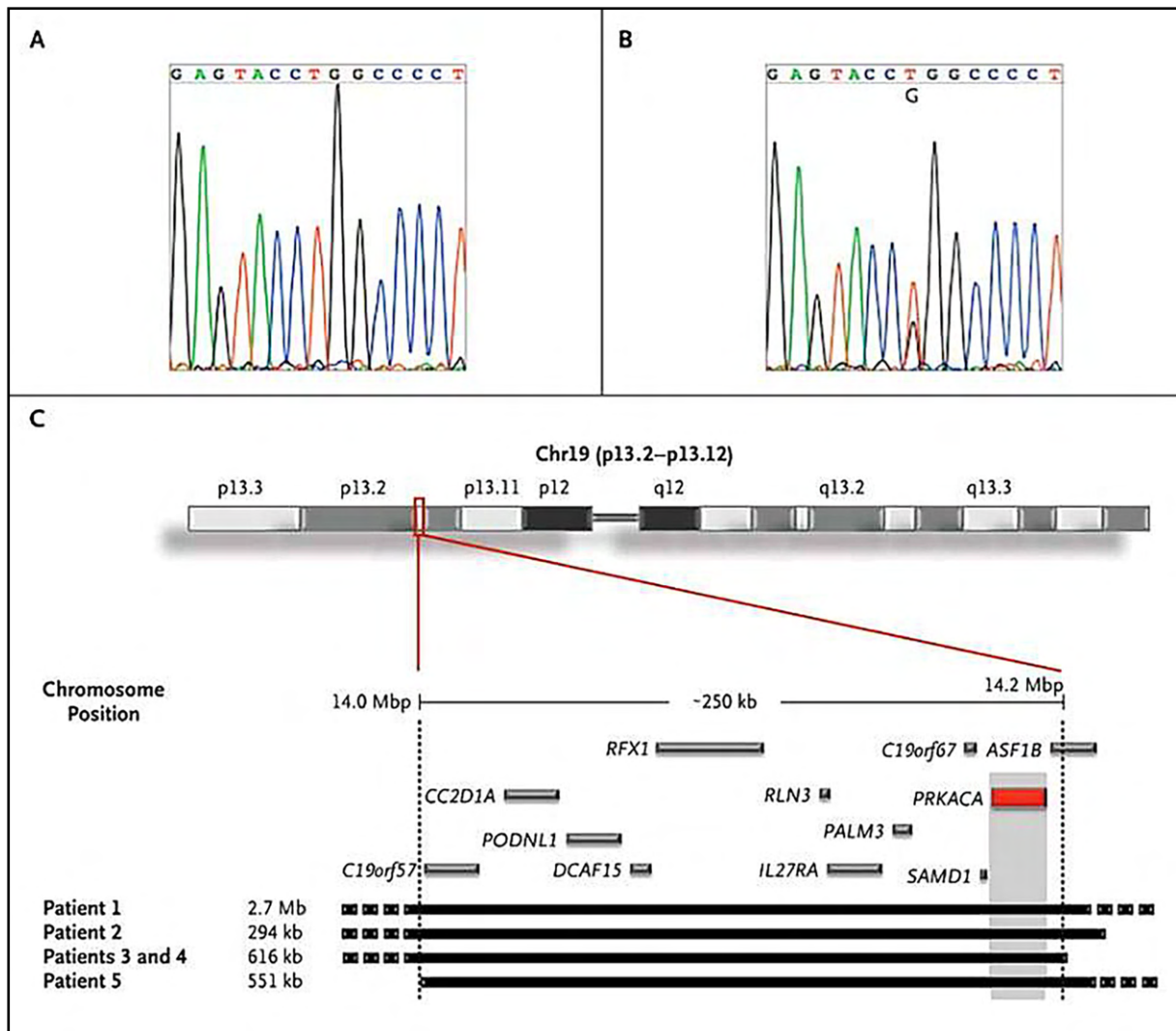


Fig. 17.13 Mutaciones somáticas de **PRKACA** (Beuschlein 2014).

Se comunicaron alteraciones genéticas de la subunidad catalítica de **PKA**. Las duplicaciones de la línea germinal de este gen dieron como resultado *hiperplasias suprarrenales bilaterales*, mientras que las mutaciones somáticas de **PRKACA** dieron como resultado *adenomas suprarrenales* productores de *cortisol* unilaterales (Kirschner, 2010).

La **fig. 17.14** presenta los valores de ACTH plasmática en los subtipos de SC (Raff, 2014).

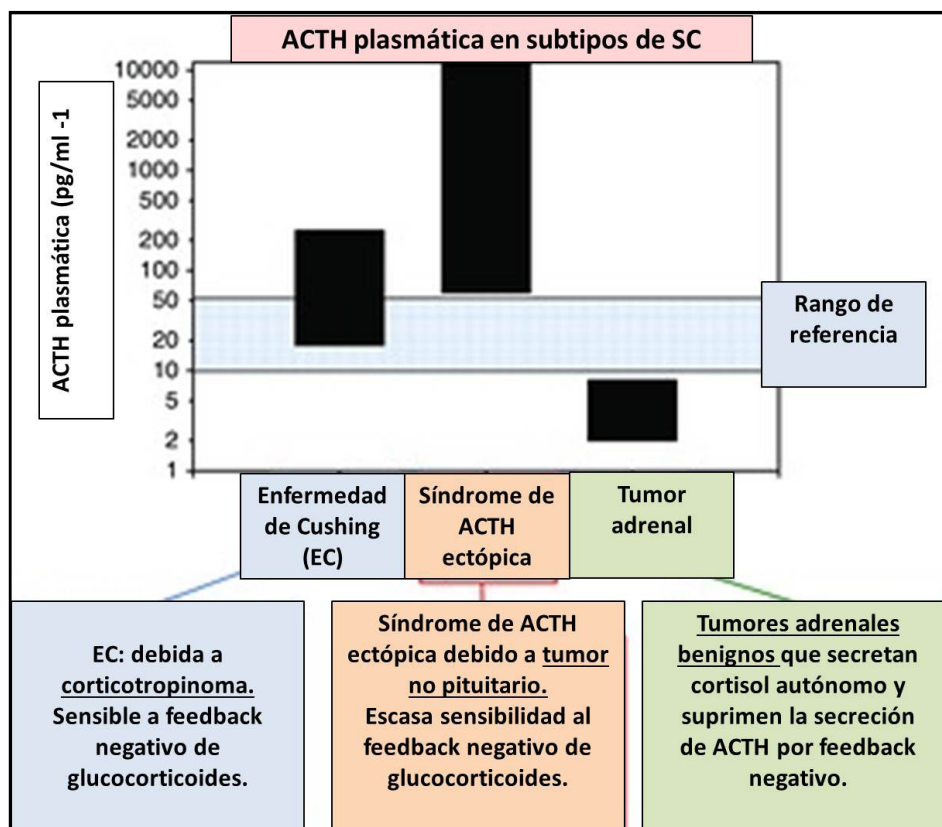


Fig. 17.14 ACTH plasmática en subtipos de SC (Raff y Carol, 2015).

- Laboratorio.

- ACTH plasmática.
- Cortisol en orina de 24 hs.
- Prueba de supresión de dexametasona de 1 mg.
- Cortisol salival nocturno.

Una prueba de detección normal excluye el diagnóstico de Cushing. Los pacientes con una prueba de detección anormal deben ser derivados a un endocrinólogo para una evaluación completa del eje pituitario-adrenal (Shibli-Rahhal y col., 2006).

- Tratamiento del SC (Morris y Grossman, 2002; Ferriere y Tabarin, 2020).

Un tratamiento eficaz del SC es fundamental para reducir la mortalidad, mejorar las comorbilidades y la calidad de vida a largo plazo.

- **Resección quirúrgica de las lesiones causales:** es la terapia de primera línea y más eficaz para normalizar la secreción de cortisol.
- **Tratamiento sintomático de las comorbilidades:** son necesarios tanto durante la fase activa de la enfermedad como para las comorbilidades persistentes después del cese del hipercortisolismo.
- **Tratamientos de segunda línea:** *terapias farmacológicas, suprarrenalectomía bilateral y radioterapia de corticotropinomas.*

La *cirugía transesfenoidal* con resección de un adenoma hipofisario tiene éxito en 75-80% de los pacientes, pero aproximadamente 20-25% muestra persistencia de SC y una proporción similar puede experimentar recurrencia dentro de 2-4 años después de la operación. Cuando la cirugía falla, el tratamiento médico puede suprimir temporalmente la producción excesiva de cortisol y mejorar sus manifestaciones clínicas. Se utilizan: ketoconazol, fluconazol, aminoglutetimida, metirapona, mitotano y etomidato. El ketoconazol se usa actualmente, mientras que los otros medicamentos continúan teniendo un rol potencial. Los fármacos que suprimen la secreción de ACTH son menos populares como tratamiento estándar e incluyen ciproheptadina, ácido valproico, cabergolina, análogos de somatostatina, agonistas

de PPAR-gamma, antagonistas de vasopresina. Una tercera categoría de fármacos son los antagonistas de los receptores de glucocorticoides. La mifepristona se está probando en pacientes con Cushing persistente o recurrente y en pacientes con carcinoma cortical suprarrenal metastásico o síndrome de ACTH ectópico no susceptibles de cirugía. Existen agentes farmacológicos eficaces capaces de revertir de forma crónica las manifestaciones bioquímicas y clínicas de la hipercortisolemia en el SC, pero se necesitan nuevos fármacos con acción a nivel hipofisario (Schteingart, 2014).

- **Tratamiento de la EC** (Tomita y col., 1981; Martínez Ruiz y col., 2003; Méndez Pérez y col., 2009; Pivonello y col., 2015).

EC: 27 pacientes fueron tratados durante un período de 18 años y se obtuvieron los siguientes resultados: 1) Adrenalectomía: 21 de 27 pacientes se sometieron a adrenalectomía. Tenían niveles elevados de ACTH sérico que no se suprimían por completo con 2 mg de dexametasona o 2,5 mg de bromocriptina al día. 2) Adenomectomía: 5 pacientes fueron sometidos a adenomectomía por vía transesfenoidal; 3 pacientes se curaron pero uno de ellos ha requerido terapia de sustitución postoperatoria con cortisol por hipopituitarismo durante un año; 2 de 5 pacientes adenomectomizados tuvieron una recurrencia después de la remisión durante 6-8 meses. Uno de estos casos recurrentes se ha tratado con éxito con bromocriptina. 3) Tratamiento médico: 2,5 mg al día de bromocriptina han sido eficaz en 2 pacientes sin adenoma hipofisario e ineficaces en los otros 4 pacientes con adenoma hipofisario (Tomita y col., 1981). La EC es poco común en la niñez y es causada por la secreción excesiva de ACTH por un corticotropinoma. Las principales características clínicas son el retraso del crecimiento y la obesidad. Los niños presentaron: aumento del cortisol libre en orina de 24 hs y pérdida del ritmo circadiano. Hubo supresión del cortisol a menos del 50% del nivel basal con dosis altas, pero no con dosis bajas de dexametasona. El microadenoma hipofisario se detectó mediante RM. La terapia consistió en cirugía transesfenoidal. Dos pacientes están en remisión, un paciente presentó recidiva de la enfermedad que requirió hipofisectomía total y un paciente tuvo enfermedad persistente después de una segunda intervención y requirió radioterapia hipofisaria (Martínez Ruiz y col., 2003).

- **Resección quirúrgica: adenomectomía selectiva transesfenoidal** que produce tasas de remisión a largo plazo. Remisión de la EC en un 78% (**fig. 17.15**).

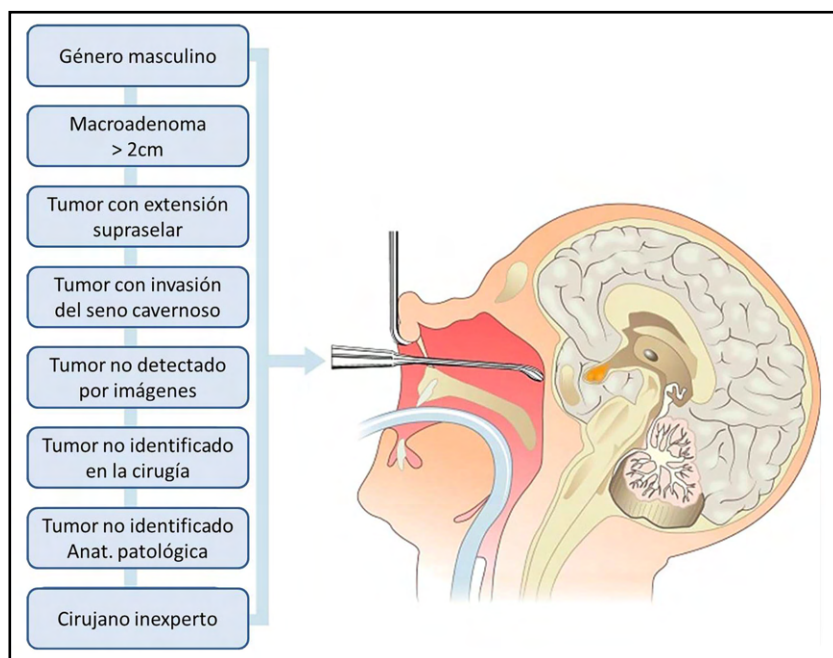


Fig. 17.15 Factores que alteran el resultado de la cirugía hipofisaria en la EC. (Pivonello y col., 2015).

- **Terapia de reemplazo poscirugía:** con hidrocortisona durante 1 mes.

- **Tratamiento farmacológico.**

- *Ketoconazol* (200mg/24hs) inhibe la actividad de las enzimas suprarrenales y disminuye la secreción de cortisol. Es el fármaco más utilizado debido a su rápida acción.

- *Mifepristona*: antagonista del receptor de glucocorticoides y resulta muy eficaz cuando la EC se asocia a diabetes mellitus.

- *Cabergolina/pasireotida*: dan remisión de la enfermedad en un subgrupo de pacientes con EC. La *pasireotida* ha sido aprobada para el tratamiento de la EC cuando la cirugía ha fracasado o cuando la cirugía no es una opción.

La terapia crónica de un paciente con EC durante 2 años con 300 µg de SMS 201-995 por día resultó en una disminución significativa de los niveles de ACTH circulante, normalización del defecto del campo visual y pérdida de la agudeza visual de un ojo y estabilización del crecimiento del tumor (Lamberts y col., 1989).

La *resección transesfenoidal de corticotropinomas* tiene el potencial de curar a la mayoría de los pacientes con EC. Sin embargo, la exploración transesfenoidal de la hipófisis no siempre es curativa y los pacientes que presentan remisión del hipercortisolismo después de la cirugía, pueden presentar una recurrencia. En el 73% de los pacientes, la remisión del hipercortisolismo se logró mediante cirugía. 42% de pacientes que recibieron hipofisectomía tuvieron remisión del hipercortisolismo. El hipopituitarismo inducido quirúrgicamente ocurrió en el 50% de los pacientes, pero solo un 5% se sometieron a adenomectomía selectiva. El 13% de los pacientes que estaban en remisión de hipercortisolismo después de la cirugía repetida desarrollaron hipercortisolismo recurrente a los 10 a 47 meses después de la operación (Fredman y col., 1989). En la **fig. 17.16** se comparan los resultados de los estudios que investigan la eficacia de la *cabergolina* en dos estudios principales (A y B) y la eficacia de la *pasireotida* en el gran estudio de fase III, a los 12 meses de seguimiento (C y D).

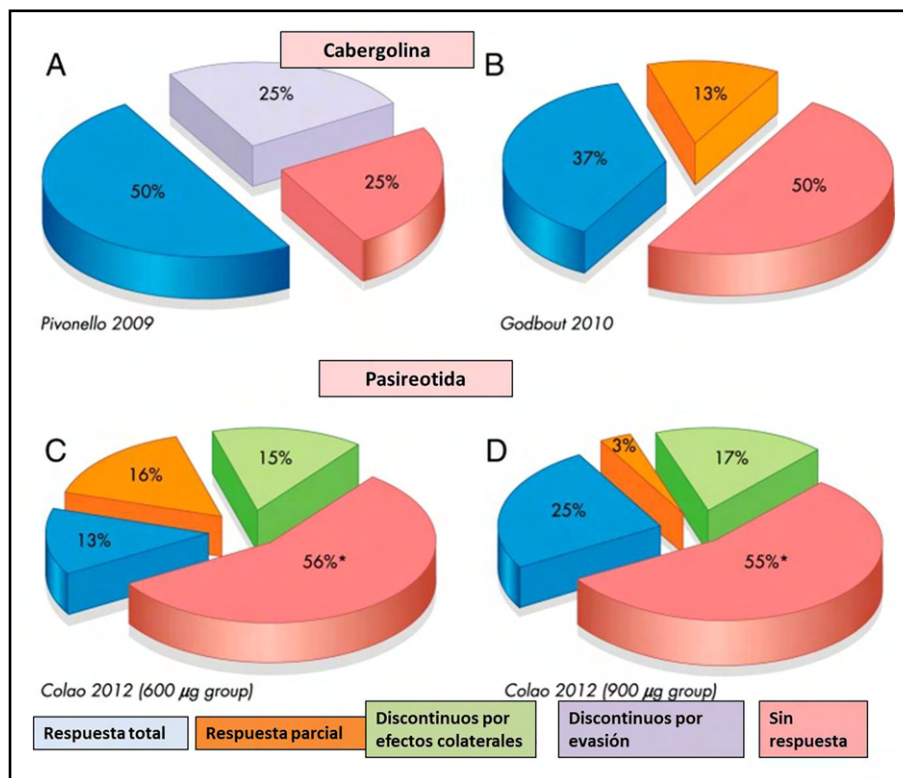


Fig. 17.16 Estudios que investigaron la eficacia de la *cabergolina* (A-B) y *pasireotida* (C-D) en la EC (Pivonello y col., 2015).

A. Pivonello y col.: estudio prospectivo no aleatorizado, 20 pacientes; respuesta completa, niveles de cortisol urinario en el rango normal. **B.** Godbout y col.: estudio retrospectivo no aleatorizado, 30 pacientes; respuesta completa, niveles urinarios de cortisol en el rango normal; respuesta parcial, disminución del nivel de cortisol urinario <125% del límite superior de lo normal. **C.** Colao y col.: estudio fase III prospectivo, aleatorizado, doble ciego, 162 pacientes, pasireotida 600 µg; respuesta completa: niveles de cortisol urinario en el rango normal; respuesta parcial: disminución del nivel de cortisol urinario ≥ 50%. **D.** Colao y col.: estudio de fase III prospectivo, aleatorizado, doble ciego, 162 pacientes, pasireotida 900 µg; respuesta completa, niveles de cortisol urinario en el rango normal; respuesta parcial, disminución del nivel de cortisol urinario ≥ 50%. * Este grupo incluye pacientes que no responden a los 12 meses de seguimiento y a los pacientes que abandonan el tratamiento por: 1) efecto terapéutico insatisfactorio; 2) retiro del consentimiento y 3) desviación del protocolo del estudio.

- Radioterapia hipofisaria

Los pacientes con EC se tratan con cirugía transesfenoidal, ya que este enfoque conduce a la remisión en el 70-90% de los casos y se asocia con una baja morbilidad. No obstante, entre los pacientes en remisión postoperatoria, el riesgo de recurrencia de la EC podría llegar al 20-25% a los 10 años de la cirugía. Los pacientes con EC persistente o recurrente podrían, por lo tanto, beneficiarse de una segunda operación hipofisaria, radioterapia pituitaria o adrenalectomía bilateral. La remisión después de la radioterapia ocurre en aproximadamente el 85% de los pacientes con EC después de un período de latencia considerable. Se recomienda la terapia médica provisional después de que los pacientes reciben radioterapia debido al largo período de latencia. Se puede considerar la adrenalectomía bilateral en pacientes que no mejoran después de la cirugía transesfenoidal, en particular pacientes muy enfermos que requieren un control rápido del hipercortisolismo, o aquéllos que desean evitar el riesgo de hipopituitarismo asociado con la radioterapia. Los pacientes adrenalectomizados requieren reemplazo hormonal suprarrenal de por vida y tienen riesgo de síndrome de Nelson (Tritos y col., 2011).

17.5 Complejo de Carney (CNC) (fig. 17.17)



Fig. 17.17 CNC (Slideshare).

El CNC presenta mixomas, pigmentación cutánea y endocrinopatía. Fue descrito por Carney en 1985 quien comunicó el registro de 40 pacientes (16 hombres y 24 mujeres): 29 tenían mixomas cardíacos, 14 tenían pigmentación cutánea, 6 tenían mixomas cutáneos y 12 tenían ambos pigmentación y mixomas; 18 tenían enfermedad adrenocortical nodular pigmentada primaria; 10 tenían fibroadenomas mamarios mixoides; 9 tenían tumor testicular y 4 tenían adenomas hipofisarios con gigantismo o acromegalia. Los pacientes eran jóvenes. La afectación patológica tendía a ser multicéntrica (corazón y piel) y bilateral en órganos pareados (suprarrenales, mamas y testículos) (Carney y col., 1985).

Se producen mutaciones **PRKARIA** que causan enfermedad. Para su estudio, se desarrollaron alelos nulos convencionales y condicionales en ratones **Prkar1a** (+/-) que desarrollaron schwannomas no pigmentados y lesiones fibroósas. El espectro de tumores se superpone al observado en pacientes con CNC, lo que confirma la validez de este modelo de ratón. El análisis genético indicó que la pérdida alélica se produjo en un subconjunto de células tumorales, lo que sugiere que la pérdida completa de **Prkar1a** juega un papel clave en la tumorigénesis. Las observaciones confirman la identidad del **PRKARIA** como un gen supresor de tumores con importancia específica para los tejidos que responden al AMP cíclico (Kirschner 2005).

En la **fig. 17.18** se presenta el ideograma del cromosoma 17 (Kirschner 2005).

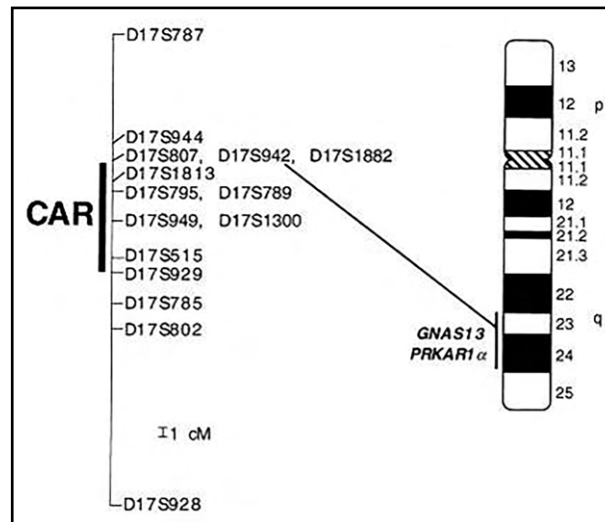


Fig. 17.18 Cromosoma 17, PRKAR1α (Kirschner, 2005).

El CNC es una predisposición tumoral hereditaria asociada con tumores hipofisarios, incluidos los somatotropinomas y aislados prolactinomas. Esta enfermedad está causada por mutaciones en **PRKAR1A**, que codifica la subunidad reguladora de tipo 1A de la proteína quinasa dependiente de cAMP: **PKA**. A diferencia de los pacientes con CNC, los ratones heterocigotos para mutaciones de **Prkar1a** no desarrollan tumores hipofisarios, aunque la desactivación completa del gen en el linaje **Pit1** de la hipófisis produce somatotropinomas. Los datos indican que la pérdida completa de **Prkar1a/PRKAR1A** puede causar tumores pituitarios en ratones y hombres. Es probable que el patrón de los tumores esté relacionado con las vías de señalización empleadas en tipos específicos de células pituitarias (Kirschner, 2010) (**fig. 17.19**).

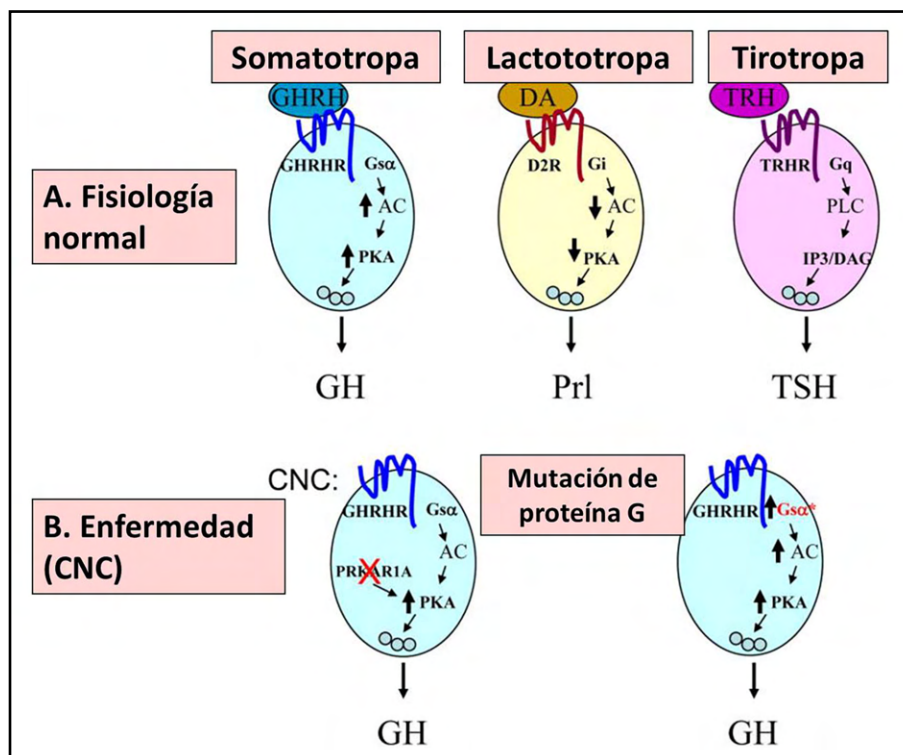


Fig. 17.19 Conexión entre mutaciones PRKAR1A y acromegalia (Kirschner, 2010).

A. Las vías de señalización primarias que conectan la señalización hipotalámica con la secreción de hormonas pituitarias están indicadas para cada tipo de célula del linaje **Pit1**. Las somatotropas dependen de la señalización de **cAMP/PKA** para este proceso.

B. La pérdida de **PRKAR1A** o la activación de **Gsα** pueden provocar la secreción de GH independiente de las señales ascendentes.

En la **fig. 17.20** se muestra la activación de las subunidades C que activan **PKA**.

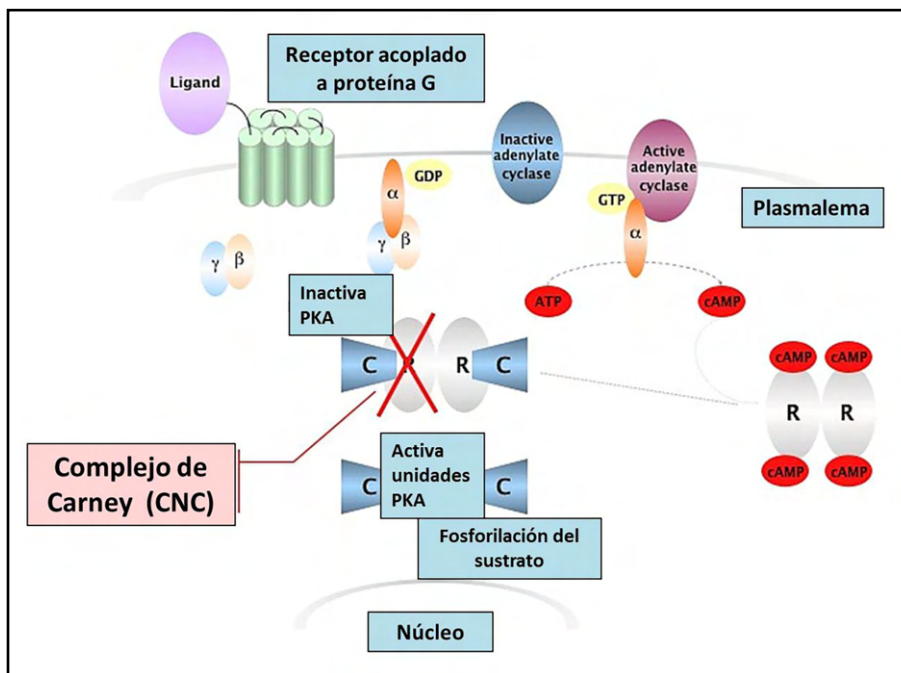


Fig. 17.20 Pacientes CNC: vías intracelulares acopladas a proteína G (CNBI).
Las mutaciones **PRKAR1A** dan subunidades reguladoras deficientes/ineficientes, lo que da como resultado la activación constitucional de las **subunidades C**.

Otro estudio hizo un análisis comparativo de genotipo-fenotipo **PRKAR1A** en humanos con CNC y ratones haploinsuficientes de **prkar1a**. Los análisis mutacionales del gen **PRKAR1A** en 51 pacientes CNC registran mutaciones con haploinsuficiencia en un 65%. Aunque no se observaron mixomas cardíacos o pigmentación alterada en ratones **prkar1a (+/-)**, se observaron algunos fenotipos similares a CNC, incluida la variabilidad alterada de la frecuencia cardíaca. Además, los ratones **prkar1a (+/-)** mostraron una marcada propensión a la tumorigénesis extracardíaca y desarrollaron sarcomas y carcinomas hepatocelulares. Dichos ratones no mostraron pérdida de heterocigosidad en **prkar1a**. Se concluye que aunque la haploinsuficiencia de **PRKAR1A** predispone a la tumorigénesis, se requieren eventos genéticos secundarios distintos para la formación de tumores (Veugelers y col., 2004).

Los mixomas cardíacos son tumores mesenquimatosos benignos que pueden presentarse como componentes del CNC. Se mapeó un defecto del gen del CNC en el cromosoma 17q24, gen **PRKAR1α** que codifica la subunidad reguladora R1 de la proteína quinasa A (**PKA**). Los análisis de ADN y proteínas de un mixoma auricular reseca de un paciente con CNC mostró una delección de **PRKAR1α** (Casey y col., 2000).

Se estudió la histopatología de las pituitarias de 8 pacientes con CNC y acromegalia. Todos los tumores se tiñeron para GH y prolactina PRL y algunos para otras hormonas. La evidencia de hiperplasia somatomatotropa estuvo presente en 5 de los 8 pacientes. En algunos pacientes con CNC, la pituitaria se caracteriza por hiperplasia somatotropa, que precede a la formación de somatotropinomas. Los datos subrayan la necesidad de una investigación temprana de la acromegalia en pacientes con CNC. Se comunicó una hipótesis molecular para su progresión clínica y se sugiere un modelo para la formación de somatotropinomas relacionados con MAS y MEN 1 (Pack y col., 2000).

La acromegalia debida a somatotropinomas se ha considerado la única manifestación del complejo relacionada con la hipófisis. Los pacientes que tenían niveles elevados de IGF-I se sometieron a una investigación de la acromegalia mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral y TRH. Se comunicaron anomalías en la secreción de PRL en pacientes con el CNC (Raff y col., 2000).

Se estudió la genética de los tumores adrenocorticales que pueden asociarse al CNC. La enfermedad adrenocortical pigmentada primaria (PPNAD) (hiperplasia adrenocortical benigna bilateral) puede presentarse aislada o como parte del CNC. Se hereda de forma autosómica dominante. Se identificaron dos locus genéticos que albergan genes para PPNAD y/o CNC en los cromosomas 2p16 y 17q22-24 (Stratakis, 2001).

Como se ha dicho, el CNC es un síndrome de neoplasia hereditaria que se caracteriza por pigmentación cutánea irregular, mixomas, tumores endocrinos y schwannomas. Entre los tumores endocrinos que comprenden el síndrome, los somatotropinomas se observan en aproximadamente el 10% de los pacientes. Para explorar el papel de la pérdida del gen CNC **PRKAR1A** en la tumorigénesis pituitaria, se creó un knockout específico de tejido (**KO**) de este gen en el ratón. Se generó una línea de ratón que expresa la recombinasa **cre** en células pituitarias utilizando el promotor del receptor de GHRH de rata. A continuación, estos ratones se cruzaron con animales nulos de **Prkar1a**. Aunque se observaron prolactinomas en ratones **KO** y controles, los ratones **KO** exhibieron una frecuencia mayor de adenomas pituitarios en comparación con los ratones **Prkar1a (+/-)** convencionales o de tipo salvaje. La caracterización de los tumores demostró que estaban compuestos de células del linaje **Pit1** que se tiñeron para GH, PRL y TSH. A nivel bioquímico, los niveles séricos de GH en animales **KO** estaban elevados respecto a controles. Los datos indicaron que la pérdida completa de **Prkar1a** es suficiente para permitir la formación de adenomas hipofisarios y anomalías del eje somatotropo, en estrecha analogía con los pacientes humanos con CNC (Yin y col., 2008).

Se comunicó el rol diferencial de las subunidades catalíticas de **PKA** en la mediación de fenotipos causados por la desactivación del gen **PRKAR1A** en el CNC. Se introdujeron alelos nulos de las subunidades catalíticas de **PKA** **Prkaca (Ca)** o **Prkacb (Cb)**. La heterocigosidad de **Prkaca** rescató la letalidad embrionaria del **R1a-CKO**, aunque los ratones tenían una vida útil más corta de lo normal y murieron por insuficiencia cardíaca con trombosis auricular. Por el contrario, la heterocigosidad de **Prkacb** solo permitió que los ratones sobrevivieran 1 día más durante la embriogénesis. El análisis bioquímico indicó que la reducción de **Ca** redujo la actividad de **PKA** en corazones embrionarios, mientras que la reducción de **Cb** tuvo efectos mínimos. En ratones **R1a-TEC3KO**, la tumorigénesis fue suprimida por una heterocigosidad para **Prkaca** y en más del 80% por heterocigosidad para **Prkacb** (Yin y col., 2011).

17.7 Síndrome de McCune-Albright (MAS) (fig. 17.21)

El MAS se define por la tríada clínica de displasia fibrosa ósea (DF), manchas cutáneas café con leche y pubertad precoz. Es una enfermedad rara con una prevalencia entre 1/100.000 y 1/1.000.000.



Fig. 17.21 Pigmentación de la piel café con leche (Dumitrescu y Collins, 2008).

A) Una lesión típica en la cara, el pecho y el brazo de una niña de 5 años con MAS que muestra bordes irregulares de la "costa de Maine" y la tendencia de las lesiones a respetar la línea media y seguir la línea media (líneas de desarrollo de Blaschko).

B) Se muestran las lesiones típicas que se encuentran a menudo en la nuca y el pliegue de los glúteos (flechas).

Fig. 17.22 se presenta el defecto molecular y fenotipo en el MAS.

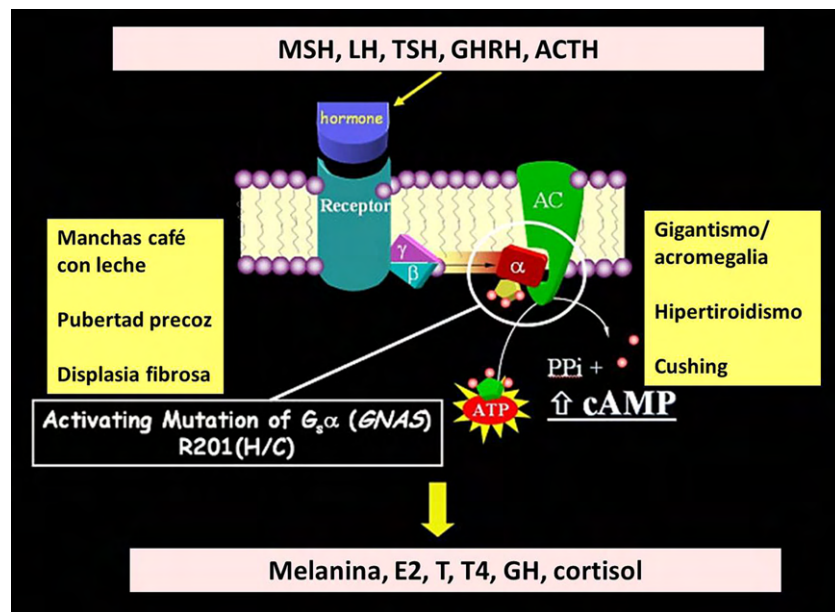


Fig. 17.22 Defecto molecular y fenotipo en el MAS (Dumitrescu y Collins, 2008).

En MAS, la **subunidad α** se muta de tal manera que induce la activación constitutiva de la **adenilato ciclasa** y produce altos niveles de **AMPc** intracelular. Esto da una mayor producción de melanina, estradiol (E2), testosterona (T), tiroxina (T4), hormona del crecimiento (GH) y cortisol. La producción desregulada de estas hormonas da como resultado manchas café con leche, pubertad precoz, displasia fibrosa, acromegalia, hipertiroidismo y enfermedad de Cushing, según el tejido que albergue la mutación somática.

En la **fig. 17.23** se presenta la explicación molecular y embriológica del MAS.

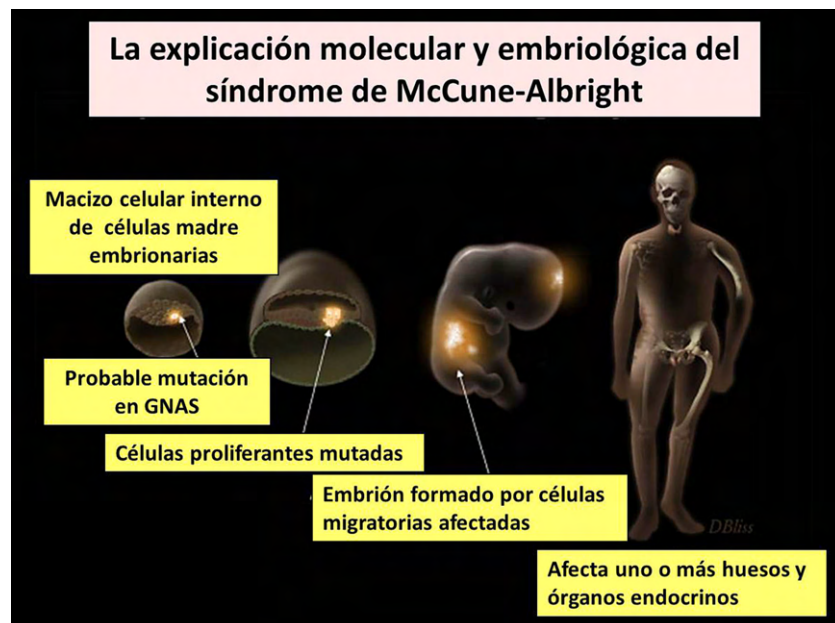


Fig. 17.23 Defecto molecular y fenotipo en el MAS (Dumitrescu y Collins, 2008).

Se produce una mutación esporádica en una sola célula (punto brillante) en algún momento temprano del desarrollo. Si esto ocurre en la etapa del macizo celular interno del embrioblasto, los tejidos de las 3 capas germinales se verán afectados. A medida que las células derivadas de este clon mutado migran por todo el organismo, surge el fenotipo final del MAS.

La DF puede afectar uno o varios sitios esqueléticos y se presenta con cojera, dolor y en ocasiones, con una fractura patológica. La escoliosis es común y puede ser progresiva. Además de la pubertad precoz (sangrado vaginal y desarrollo de tejido mamario en niñas; agrandamiento testicular y del pene con comportamiento sexual precoz en niños), pueden estar involucradas otras endocrinopatías hiperfuncionantes, como hipertiroidismo, exceso de GH, SC y pérdida renal de fosfato. La afectación renal se observa en un 50% de los pacientes con MAS. La enfermedad es el resultado de mutaciones somáticas del gen **GNAS**, específicamente mutaciones en la proteína reguladora de cAMP, **Gsa**. La extensión de la enfermedad está determinada por la proliferación, migración y supervivencia de las células en las que la mutación ocurre durante el desarrollo embrionario. El diagnóstico de MAS se establece sobre bases clínicas. Las Rx son suficientes para hacer el diagnóstico de DF y la biopsia de las lesiones confirman el diagnóstico. Las pruebas genéticas son posibles, pero no están disponibles de forma rutinaria. El asesoramiento genético debe ofrecerse. Tratamiento: se recomienda alguna forma de intervención quirúrgica. Los bisfosfonatos. Se recomiendan ejercicios para ayudar a mantener la musculatura y para minimizar el riesgo de fracturas. Se requiere el tratamiento de todas las endocrinopatías. La transformación maligna de las lesiones de DF ocurre en menos del 1% de los casos (Dumitrescu y Collins, 2008) (figs. 17.24-17.25).

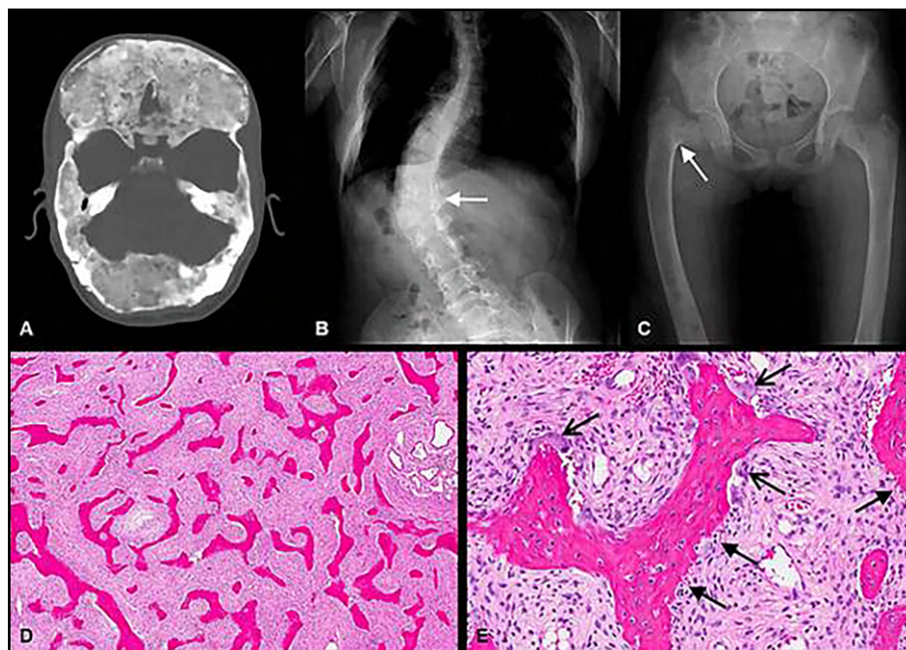


Fig. 17.24 Características radiográficas e histológicas de la displasia fibrosa (DF). (Dumitrescu y Collins, 2008).

A) TC axial con DF difusa de base de cráneo. Nótese el característico aspecto homogéneo de “vidrio esmerilado” del hueso. **B)** Rx de columna con escoliosis secundaria a DF vertebral (flecha blanca). **C)** DF femoral con una deformidad clásica en varo (“cayado de pastor”) (flecha blanca). **D-E)** Histología DF: H&E que demuestra trabéculas curvilíneas clásicas y estroma fibroso hiper celular. **D)** bajo aumento. **E)** mayor aumento: se muestran signos de remodelación aumentada, incluidas fibras de Sharpey (flechas abiertas) y abundantes osteoclastos (flechas cerradas).

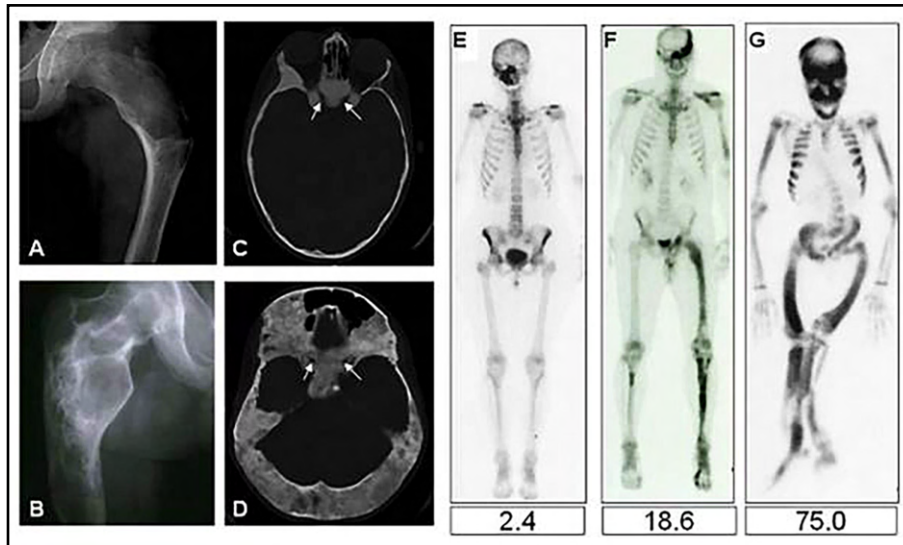


Fig. 17.25 Aspecto radiográfico de displasia fibrosa (DF) (Dumitrescu y Collins, 2008).

- A)** Se muestra un fémur proximal con apariencia típica de vidrio esmerilado y deformidad en curvatura de pastor en un niño de 10 años.
- B)** La aparición de DF en el fémur de un hombre de 40 años no tratado demuestra la tendencia de la DF a parecer más esclerótica con el tiempo.
- C)** La apariencia típica en vidrio esmerilado de DF en la región craneofacial en una imagen de TC de 10 se muestra un niño de un año. Las flechas blancas indican los nervios ópticos, que normalmente están revestidos con DF.
- D)** Una imagen de TC en una mujer de 40 años demuestra el aspecto típico de DF craneofacial en una persona mayor, con lesiones mixtas sólidas y quísticas.
- E-G)** Gammagrafía ósea en DF. **E)** Mujer de 50 años con DF monostótica confinada a un solo foco que involucra huesos contiguos en la región craneofacial.
- F)** Varón de 42 años con DF poliostótica que muestra tendencia a que la DF sea a predominio unilateral y afecta la base del cráneo y el fémur proximal.
- G)** Adolescente de 16 años con MAS y afectación de casi todos los sitios esqueléticos (panostóticos).

La displasia fibrosa (DF) surge de mutaciones activadoras somáticas post-cigóticas en **GNAS**, en la subunidad α de la transcripción reguladora de cAMP, **G α** . La señalización constitutiva de Gs da como resultado la activación de la adenilil ciclasa y la producción de AMPc desregulada. En el esqueleto, esto conduce al desarrollo de lesiones FD con matriz ósea anormal, trabéculas y colágeno, producidas por células mesenquimales indiferenciadas (Robinson y col., 2016).

El MAS es un trastorno en mosaico poco común que se presenta a lo largo de un amplio espectro clínico. Los pacientes presentan una combinación variable de displasia fibrosa ósea (DF), máculas cutáneas café con leche y endocrinopatías hiperfuncionantes. En el hueso, **G α** conduce a una diferenciación alterada de las células madre esqueléticas y a la formación de lesiones expansibles de FD, lo que resulta en fracturas, dolor y deterioro funcional. Un enfoque sistemático para el diagnóstico y el tratamiento es de vital importancia para optimizar los resultados de los pacientes con FD/MAS. La detección y el tratamiento de las endocrinopatías pueden mitigar algunas morbilidades esqueléticas (Spencer y col., 2019).

En la **fig. 17.26** se muestra la actividad de Cre en las células somatotropas, lactotropas y tiotropas (Spencer y col., 2019).

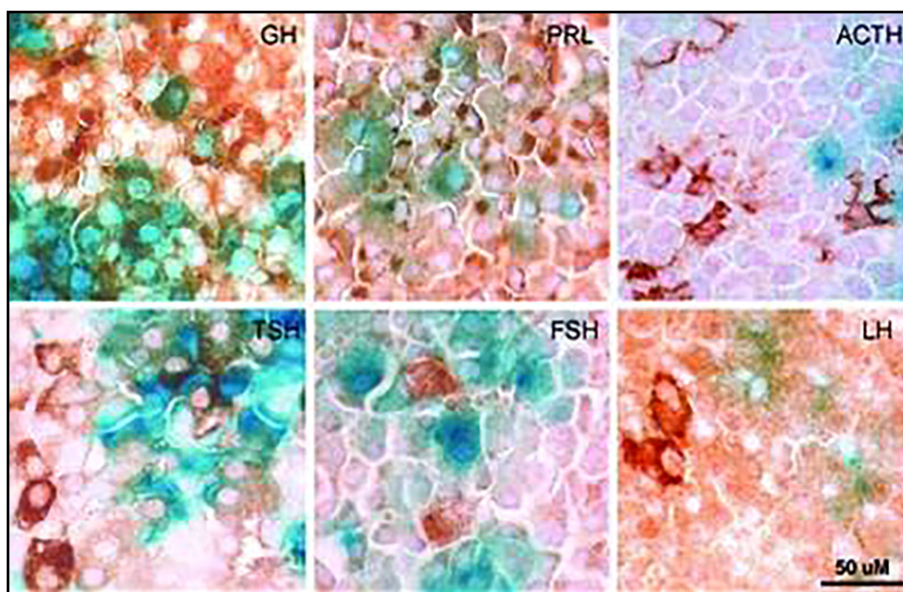


Fig. 17.26 La actividad de Cre se limita a las células que producen GH, Prl y TSH. (Spencer, 2019). β -galactosidasa: azul, DAB: ocre. Cada panel muestra secciones de la pituitaria teñidas para las hormonas indicadas en la parte superior derecha de cada imagen. Nótese la colocalización de los colores azul y marrón en los paneles GH, Prl y TSH, mientras que no se observa ninguna colocalización para ACTH, LH o FSH.

Se revisaron 112 pacientes con diagnóstico de MAS/acromegalia (65 varones, edad media: 24,4 años, rango, 3-64). Entre los 40 pacientes pediátricos, 57% tenían pubertad precoz. El exceso de GH/IGF-1 fue sugerido por un crecimiento acelerado en 85% de los casos pediátricos. La acromegalia casi siempre se asoció con DF de la base del cráneo. Las técnicas de imagen revelaron un adenoma en el 54% de los pacientes (macroadenoma en más de dos tercios). Los niveles medios de GH y la puntuación media de IGF-1 al diagnóstico fueron 57 y 8 μ g/L, respectivamente. La hiperprolactinemia estuvo presente en el 81%. La cirugía hipofisaria, realizada en 25 casos, curó muy raramente el exceso de GH/IGF-1. Los análogos de somatostatina mejoraron los niveles de GH/IGF-1 en la mayoría de los pacientes, pero lograron el control de la acromegalia en solo el 30% de 56 pacientes. Pegvisomant alcanzó niveles normales de IGF-1 en 10 de 13 casos. Se comunicó que la acromegalia, que está presente en el 20-30% de los pacientes con MAS, plantea problemas diagnósticos y terapéuticos particulares (Salenave y col., 2014).

Además de la tríada clásica de DF, lesiones cutáneas pigmentadas *café con leche* y pubertad precoz, se han informado otras características endocrinológicas múltiples, como hipertiroidismo, exceso de hormona del crecimiento, hipercortisolismo y raquitismo hipofosfatémico (Tufano y col., 2020).

La endocrinopatía más común asociada con el MAS es la pubertad precoz que ocurre con mucha más frecuencia en las niñas que en los niños. El tratamiento farmacológico consiste en inhibir la producción de estrógenos o bloquear la acción de los estrógenos a nivel del órgano terminal: tamoxifeno (modulador del receptor de estrógeno) y el letrozol (inhibidor de la aromatasas de tercera generación). En niños se usa un bloqueador del receptor de andrógenos y un inhibidor de la aromatasas (Neyman y Eugster, 2017).

Los endocrinólogos, reumatólogos y ginecólogos se enfrentan a nuevos problemas cuando los niños con MAS llegan a la edad adulta. Las lesiones óseas displásicas parecen estabilizarse después de la pubertad, pero sus consecuencias incapacitantes pueden continuar hasta la edad adulta. La función gonadal y la fertilidad suelen ser anormales en mujeres en las que la pubertad fue precoz, debido a la persistencia de

un grado variable de autonomía ovárica que dificulta el desarrollo folicular y la ovulación adecuados. La acromegalia es difícil de tratar quirúrgicamente debido a la displasia de la base del cráneo. Los análogos de la somatostatina son sólo parcialmente eficaces en la mayoría de los casos. El antagonista del receptor de GH: el *pegvisomant*, puede ser más eficaz para normalizar los niveles de IGF-I. El hipertiroidismo, generalmente debido al bocio tóxico multinodular, puede tratarse con éxito mediante cirugía o administración de yodo radiactivo. Datos recientes sugieren que la incidencia de cáncer en la edad adulta (hueso, mama, tiroides) está aumentada en estos pacientes (Chanson y col., 2007).

Se hizo tratamiento con letrozol en 28 niñas. El tratamiento con letrozol fue muy eficaz para disminuir la tasa de maduración esquelética, con una disminución en el cambio en la edad ósea sobre el cambio en la edad cronológica. El tratamiento con letrozol resultó en efectos beneficiosos sostenidos sobre la maduración esquelética, la velocidad de crecimiento y la altura adulta prevista (Estrada y col., 2016).

Referencias

- Abs R et al. Cabergoline in the treatment of acromegaly: A study in 64 patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 83 (1998): 374-378.
- Ahmed S et al. Outcome of transsphenoidal surgery for acromegaly and its relationship to surgical experience. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 50 (1999): 561-567.
- Alexander L et al. Epidemiology of acromegaly in the Newcastle region. *Clin Endocrinol (Oxf)* 12 (1980): 71-79.
- Anthony L, Freda PU: De la somatostatina al octreótido LAR: evolución de un análogo de somatostatina. *Curr Med Res Opin* 25: 2989– 2999, 2009.
- Argente J, Sotos JF. Hipercrecimientos. *Protoc Diagn Ter Pediatr* 2019; 1:107-23.
- Aron DC et al. Enfermedad de Cushing. *Endocrinol Metab Clin North Am* 16(3):705-30, 1987.
- Arosio M et al. Predictores de morbilidad y mortalidad en la acromegalia: una encuesta italiana. *Eur J Endocrinol* 2012; 167: 189-98.
- Astafeva LI et al. Diagnóstico moderno y seguimiento postoperatorio de pacientes con acromegalia en una clínica de neurocirugía. *Zh Vopr Neirokhir Im NN Burdenko* 81(1):58-62, 2017.
- Attanasio R et al. Gamma-knife radiosurgery in acromegaly: a 4 year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(7): 3105-12.
- Ausiello JC et al. Postoperative assessment of the patient after transsphenoidal pituitary surgery. *Pituitary*, 11 (2008): 391-401.
- Ball SG et al. Hypothalamic adipsic syndrome: Diagnosis and management. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 47 (1997), pp. 405-409.
- Barbot M et al. Síndrome de Cushing: descripción general de la presentación clínica, herramientas de diagnóstico y complicaciones. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 34 (2): 101380, 2020.
- Baris D et al. Acromegaly and cancer risk: a cohort study in Sweden and Denmark. *Cancer Causes Control* 13 (2002): 395-440.
- Barkan AL. Radiotherapy in acromegaly: the argument against. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003; 58(2): 132-5.
- Barkan AL. Acromegaly. Diagnosis and therapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1989; 18(2):277-310. (Barkan, 1989).
- Bassetti M et al. Growth hormone and prolactin secretion in acromegaly: correlations between hormonal dynamics and immunocytochemical findings. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67(6):1195-1204.
- Barzilay J et al. Cushing: Benign and malignant tumors in patients with acromegaly. *Arch Intern Med* 151 (1991): 1629-1632.
- Baujat G et al. Achondroplasia. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2008; 22(1):3-18.
- Bengtsson BA et al. Epidemiology and long-term survival in acromegaly. A study of 166 cases diagnosed between 1955 and 1984E. *Acta Med Scand* 223 (1988): 327-335.
- Ben-Shlomo A et al. Clínica, calidad de vida y valor económico del control de la acromegalia. *Pituitar-ia* (2011); 14: 284-94.
- Ben-Shlomo A, Melmed S. Somatostatin agonists for treatment of acromegaly. *Mol Cell Endocrinol* 286 (2008): 192-198.
- Ben-Shlomo A, S. Melmed S. Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30 (2001): 565-583.
- Berl T et al. Oral tolvaptan is safe and effective in chronic hyponatremia. *J Am Soc Nephrol*, 21 (2010): 705-712.
- Bernabeu I et al. Pegvisomant and cabergoline combination therapy in acromegaly. *Pituitary*, 16 (2013): 101-108.
- Beuschlein F et al. Activación constitutiva de la subunidad catalítica PKA en el síndrome de Cushing suprarrenal. *N Engl J Med* 370 (11): 1019-28, 2014.

- Bevan JS. Clinical review: The antitumoral effects of somatostatin analog therapy in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 90 (2005): 1856-1863.
- Bex M et al. AcroBel-El registro belga de acromegalia: una encuesta sobre el resultado de la “vida real” en 418 sujetos acromegálicos. *Eur J Endocrinol* 2007; 157: 399-409.
- Bodemar G, Hjortswang H. Octreotide-induced pancreatitis: An effect of increased contractility of Oddi sphincter. *Lancet*, 348 (1996): 1668-1669.
- Boehnert M et al. Severe hyponatremia after transsphenoidal surgery for pituitary adenomas. *Kidney Int*, 53 (1998): S-12-S-14.
- Bogazzi F et al. Comparison of colonoscopy and fecal occult blood testing as a first-list screening of colonic lesions in patients with newly diagnosed acromegaly. *D J Endocrinol Invest* 33 (2010): 530-533.
- Bogazzi F et al. Identification of acromegalic patients at risk of developing colonic adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(4): 1351-6.
- Boguszewski CL. Acromegalia: “Debes saberlo para pensar en ello”. *Eur J Endocrinol* 183(1):C1-C4, 2020.
- Bonert VS et al. Lipodystrophy in patients with acromegaly receiving pegvisomant. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (2008): 3515-3518.
- Bouali H, Latrech H. Acondroplasia: opciones actuales y perspectivas futuras. *Pediatr Endocrinol Rev* 12 (4): 388-95, 2015.
- Bourdelot A et al. Clinical, hormonal and magnetic resonance imaging (MRI) predictors of transsphenoidal surgery outcome in acromegaly. *Eur J Endocrinol*, 150 (2004): 763-771.
- Brooke AM, Drake WM. Serum IGF-I levels in the diagnosis and monitoring of acromegaly. *Pituitary* 2007; 10(2): 173-9.
- Bruno OD et al. In what clinical settings should Cushing’s syndrome be suspected? *Medicina (Buenos Aires)* 69:674-680, 2009.
- Buchfelder M et al. Pituitary tumor size in acromegaly during pegvisomant treatment: Experience from MR re-evaluations of the German Pegvisomant Observational Study. *Eur J Endocrinol*, 161 (2009): 27-35.
- Buchfelder M, Feulner J. Tratamiento neuroquirúrgico de la acromegalia. *Prog Mol Biol Transl Sci* 138:115-39, 2016.
- Beuschlein F et al. Activación constitutiva de la subunidad catalítica de PKA en la suprarrenal Síndrome de Cushing. *N Engl J Med* 370: 1019-1028, 2014.
- Buhk JH et al. Tumor volume of growth hormone-secreting pituitary adenomas during treatment with pegvisomant: A prospective multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab*, 95 (2010): 552-558.
- Burton CM, Nemergut EC. Anesthetic and critical care management of patients undergoing pituitary surgery. *Pituitary surgery-a modern approach*. *Front Horm Res* (2006): 236-255.
- Carlsen SM et al. Preoperative octreotide treatment in newly diagnosed acromegalic patients with macroadenomas increases cure short-term postoperative rates: A prospective, randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (2008): 2984-2990.
- Carney JA et al. El complejo de mixomas, pigmentación irregular e hiperactividad endocrina. *Medicine (Baltimore)* 64: 270-283, 1985.
- Carter EM et al. Advances in understanding etiology of achondroplasia and review of management. *Curr Opin Pediatr* 2007; 19:32-37.
- Casey M et al. Mutaciones en la subunidad reguladora de proteína quinasa A R1alpha causan mixomas cardíacos familiares y complejo de Carney. *J Clin Invest* 106: R31- 38, 2000.
- Castinetti F et al. Outcome of gamma knife radiosurgery in 82 patients with acromegaly: correlation with initial hypersecretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(8): 4483-8.
- Castinetti F et al. Radiotherapy and radiosurgery in acromegaly. *Pituitary*, 12 (2009): 3-10.
- Casulari LA et al. Differential diagnosis and treatment of hyponatremia following pituitary surgery. *J Neurosurg Sci*, 48 (2004):11-18.
- Chakravarty AA et al. Incidence of gall stone formation in acromegalic patients on octreotide therapy. *Indian J Endocrinol Metab*, 16 (2012): 406-408.
- Chanson P et al. Pituitary tumours: Acromegaly. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 23 (2009): 555-574.

- Chanson P et al. Síndrome de McCune-Albright en la edad adulta. *Pediatr Endocrinol Rev* 2007; 4 Suppl 4: 453-62.
- Clemmons DR. IGF-I assays: Current assay methodologies and their limitations. *Pituitary*. 2007; 10(2): 121-8.
- Clemmons DR et al. Evaluation of acromegaly by radioimmunoassay of somatomedin-C. *N Engl J Med* 1979; 301(21):1138-42.
- Colao A et al. Acromegalia. *Nat Rev Dis* 5(1):20, 2019.
- Colao A et al. Glucose tolerance and somatostatin analog treatment in acromegaly: A 12-month study. *Clin Endocrinol Metab*, 94 (2009): 2907-2914.
- Colao A et al. Long-term effects of depot long-acting somatostatin analog octreotide on hormone levels and tumor mass in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 86 (2001): 2779-2786.
- Colao A et al. Partial surgical removal and growth hormone-secreting pituitary tumors enhance the response to somatostatin analogs in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 91 (2006): 85-92.
- Colao A et al. Pasireotida versus octreotida en la acromegalia: un estudio de superioridad. *J Clin Endocrinol Metab* 99(3):791-9, 2014.
- Colao A et al. Resistance to somatostatin analogs in acromegaly. *Endocr Rev*, 32 (2011): 247-271.
- Colao A et al. Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis and management. *Endocr Rev* 2004; 25(1): 102-5.
- Cole CD et al. Hyponatremia in neurosurgical patient: Diagnosis and management. *Neurosurg Focus* 16 (2004): 1-10.
- Cordero RA, Barkan AL. Diagnosis of acromegaly. *Endocr Metab Disord*. 2008; 9:13-19.
- Cozzi R et al. Cabergoline addition to depot somatostatin analogues in resistant acromegalic patients: Efficacy and lack of predictive value of prolactin status. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 61 (2004): 209-215.
- Cozzi R et al. Primary treatment of acromegaly with octreotide LAR: A long-term (Up to nine years) prospective study of its efficacy in the control of disease activity and tumor shrinkage. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(4): 1397-403.
- Crowley RK et al. Clinical insights into adipsic diabetes insipidus: A large case series. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 66 (2007): 475-486.
- Dal J et al. Acromegalia según el Registro Danés de Pacientes: qué tan válidos son los diagnósticos de DAI y cómo los patrones de registro afectan la precisión de los datos del registro. *Clin Epidemiol* 2014; 6: 295-9.
- Daly AF et al. Alta prevalencia de adenomas hipofisarios: un estudio transversal en la provincia de Lieja, Bélgica. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91: 4769-75.
- Daly AF et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(5):1891-96.
- Daughaday WH. Octreotide is effective in acromegaly but often results in cholelithiasis. *Ann Intern Med* 1990; 112(3):159-160.
- De Herder WW et al. Limited predictive value of an acute test with subcutaneous octreotide for long-term IGF-I normalization with Sandostatin LAR in acromegaly. *Eur J Endocrinol*, 153 (2005): 67-71.
- Debono M, Newell-Price J. New formulations and approaches in the medical treatment of acromegaly. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 17 (2010): 350-355.
- Dekkers OM et al. Mortality in acromegaly: A metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (2008): 61-67.
- Devuyst O. Physiopathology and diagnosis of nephrogenic diabetes insipidus. *Ann Endocrinol (Paris)* 73:128-129, 2012.
- Drake WW et al. Insulin sensitivity and glucose tolerance improve in patients with acromegaly converted from depot octreotide to pegvisomant. *Eur J Endocrinol*, 149 (2003): 521-527.
- Drange MR et al. Pituitary tumor registry: a novel clinical resource. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (2000): 168-174.
- Dumitrescu CE, Collins MT. Síndrome de McCune-Albright. *Orphanet J Rare Dis* 3:12, 2008.

- Dumont AS et al. Postoperative care following pituitary surgery. *J Intensive Care Med*, 20 (2005): 127-140.
- Ellison DH, Berl T. The syndrome of inappropriate antidiuresis. *N Engl J Med*, 356 (2007): 2064-2072.
- Espinosa de los Monteros AL et al. The role of primary pharmacological therapy in acromegaly. *Pituitary* 2014; Suppl 1: S4-10.
- Estrada A et al. Resultados a largo plazo del tratamiento con letrozol para la pubertad precoz en niñas con síndrome de McCune-Albright. *Eur J Endocrinol* 2016; 175 (5): 477-483.
- Etxabe J et al. Acromegaly: an epidemiological study. *J Endocrinol Invest* 16 (1993): 181-187.
- Ezzat S. Hepatobiliary and gastrointestinal manifestations of acromegaly. *Dig Dis* 10 (1992): 173-180.
- Fazio S et al. Cardiovascular effects of short-term growth hormone hypersecretion. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (2000): 179-182.
- Feelders RA et al. Medical therapy of acromegaly: Efficacy and safety of somatostatin analogs. *Drugs*, 69 (2009): 2207-2226.
- Feenstra J et al. Combined therapy with somatostatin analogues and weekly pegvisomant in active acromegaly. *Lancet*, 365 (2005): 1644-1646.
- Fernández A et al. Prevalence of pituitary adenomas: a community based cross-sectional study in Banbury (Oxfordshire, UK). *Clin Endocrinol (Oxf)* 72 (2010): 377.
- Ferriere A, Tabarin A. Síndrome de Cushing: tratamiento y nuevos enfoques terapéuticos. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 34(2):101381, 2020.
- Ficha técnica. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Octreotido. Cabergolina. Pegvisomant.
- Fizlejder L. Neoplasias en la acromegalia. Incidencia del cáncer de colon. CABA, Argentina RAEM 50 (2013).
- Fougner SL et al. Adenoma granulation pattern correlates to clinical variables and effect of somatostatin analogue treatment in a large series of patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 76 (2012): 96-102.
- Frara S et al. Los criterios modernos para el tratamiento médico de la acromegalia. *Prog Mol Biol Transl Sci* 138:63-83, 2016.
- Freda PU et al. Long-acting somatostatin analog therapy of acromegaly: A meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 90 (2005): 4465-4473.
- Freda PU. Somatostatin analogs in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab* 87 (2002): 3013-3018.
- Friedman RB et al. Repeat transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Neurosurg* 1989; 71(4):520-527.
- Gagan Priya et al. Diabetes insípida: un enfoque pragmático para el tratamiento. *Cureus* 13 (1):e12498, 2021.
- Ghirardello S et al. Diabetes insipidus in craniopharyngioma: Postoperative management of water and electrolyte disorders. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 19 (2006): 413-421.
- Giustina A et al. Current management practices for acromegaly: An international survey. *Pituitary*, 14 (2011): 125-133.
- Giustina A et al. Diagnosis and treatment of acromegaly complications. *J Endocrinol Invest*, 26 (2003): 1242-1247.
- Giustina A et al. High-dose intramuscular octreotide in patients with acromegaly inadequately controlled on conventional somatostatin analogue therapy: A randomised controlled trial. *Eur J Endocrinol*, 161 (2009): 331-338.
- Giustina A. et al. A consensus on criteria for cure of acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 95 (2010): 3141-3148.
- Gómez Prat A et al. Estenosis del canal lumbar en la acondroplasia. Prevención y corrección de la lordosis lumbar. *An Esp Pediatr* 2001; 54(2):126- 131.
- Granada ML. Seguimiento bioquímico de la acromegalia tratada. Limitaciones de las determinaciones actuales de IGF-I y perspectiva. *Minerva Endocrinol* 44(2):143-158, 2019.
- Gullu BE et al. Thyroid cancer is the most common cancer associated with acromegaly. *Pituitary* 13 (2010): 242-248.

- Halperin I et al. A short acute octreotide test for response prediction of long-term treatment with somatostatin analogues in acromegalic patients. *Horm Metab Res*, 40 (2008): 422-426.
- Halperin I. Acromegalia y cáncer (consecuencias prácticas). *Endocrinol Nutr* 50 (2003): 286-288.
- Hannon MJ et al. Disorders of water homeostasis in neurosurgical patients. *J Clin Endocrin Metab*, 97 (2012): 1423-1433.
- Hannon MJ, Thompson CJ. The syndrome of inappropriate antidiuretic hormone: Prevalence, causes and consequences. *Eur J Endocrinol*, 162 (2010): S5-S12.
- Hecht JT et al. Obesity in achondroplasia. *Am J Med Genet* 1988; 31:597-602.
- Hecht JT et al. Mortalidad en la acondroplasia. *Am J Hum Genet* 41(3):454-64, 1987.
- Hensen J et al. Prevalence, predictors and patterns of postoperative polyuria and hyponatraemia in the immediate course after transsphenoidal surgery for pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 50 (1999): 431-439.
- Higham CE et al. Effective combination treatment with cabergoline and low-dose pegvisomant in active acromegaly: A prospective clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 97 (2012): 1187-1193.
- Higham CE et al. Successful use of weekly pegvisomant administration in patients with acromegaly. *Eur J Endocrinol*, 161 (2009): 21-25.
- Holdaway IM, Rajasoorya C. Epidemiología de la acromegalia. *Pituitaria* 1999; 2: 29-41.
- Horton WA et al. Achondroplasia. *Lancet* 2007; 370(9582):162-172.
- Ionescu O et al. Sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique et diabète insipide dans les suites opératoires de l'adénomectomie hypophysaire. *Ann Endocrinol*, 64 (2003): 370-375.
- Jallad RS, Bronstein MD. Optimizing medical therapy of acromegaly: Beneficial effects of cabergoline in patients uncontrolled with long-acting release octreotide. *Neuroendocrinology*, 90 (2009): 82-92
- Jenkins JP. Acromegaly and cancer. Department of Endocrinology St. Bartholomew's Hospital, London UK. *Horm Res* 62 (2004): 108-115.
- Jenkins PJ, Fairclough PD. Screening guidelines for colorectal cancer and polyps in patients with acromegaly. *Gut* 51 (2002): v13-v14.
- Jimenez C et al. Follow-up of pituitary tumor volume in patients with acromegaly treated with pegvisomant in clinical trials. *Eur J Endocrinol*, 159 (2008): 517-523.
- Kalra S et al. Diabetes insípida: la otra diabetes. *Indian J Endocrinol Metab* 20(1):9-21, 2016.
- Kannan S, Kennedy L. Diagnosis of acromegaly: state of the art. *Expert Opin Med Diagn* 2013; 7(5):443-453.
- Kasagi K et al. Goiter associated with acromegaly: sonographic and scintigraphic findings of the thyroid gland. *Thyroid* 9 (1999): 791-796.
- Kasuki L et al. Determinantes de morbilidad y mortalidad en la acromegalia. *Arch Endocrinol Metab* 63 (6): 630-637, 2019.
- Katznelson JL et al. Medical guidelines for clinical practice for the diagnosis and treatment of acromegaly. *Endocr Pract* 17 (2011): 1-44.
- Kelly DF et al. Delayed hyponatremia after transsphenoidal surgery for pituitary adenoma. Report of nine cases. *J Neurosurg*, 83 (1995): 363-367.
- Kohn DT, Kopchick JJ: antagonistas del receptor de la hormona del crecimiento. *Minerva Endocrinol* 27: 287-298, 2002.
- Kirschner LS: PRKAR1A y la evolución de los tumores hipofisarios. *Mol Cell Endocrinol* 326: 3-7, 2010.
- Kirschner LS et al. Un modelo de ratón para el síndrome tumoral del complejo de Carney desarrolla neoplasia en tejidos que responden al AMP cíclico. *Cancer Res* 65: 4506-4514, 2005.
- Kopchick JJ et al. Growth hormone receptor antagonists: Discovery, development, and use in patients with acromegaly. *Endocr Rev*, 23 (2002): 623-646.
- Kristof RA et al. Incidence, clinical manifestations, and course of water and electrolyte metabolism disturbances following transsphenoidal pituitary adenoma surgery: A prospective observational study. *J Neurosurg*, 111 (2009): 555-562.

- Kurimoto M et al. The prevalence of benign and malignant tumors in patients with acromegaly at a single institute. *Endocr J* 55 (2008): 67-71.
- Lafeber M et al. Absence of major fibrotic adverse events in hyperprolactinemic patients treated with cabergoline. *Eur J Endocrinol*, 162 (2010): 667-675.
- Lamberts SW et al. The effect of the long-acting somatostatin analogue SMS 201-995 on ACTH secretion in Nelson's syndrome and Cushing's disease. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1989; 120(6):760-766.
- Landis CA et al. Características clínicas de los pacientes con acromegalia cuyos tumores pituitarios contienen proteína G mutante. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 1416-1420, 1990.
- Landolt AM et al. Octreotide may act as a radioprotective agent in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 85 (2000): 1287-1289.
- Landolt AM et al. Stereotactic radiosurgery for recurrent surgically treated acromegaly: Comparison with fractionated radiotherapy. *J Neurosurg*, 88 (1998): 1002-1008.
- Lavrentaki A et al. Epidemiología de la acromegalia: revisión de estudios de población. *Pituitar-ia* 2017; 20: 4-9.
- Laws ER. Surgery for acromegaly: Evolution of the techniques and outcomes. *Rev Endocr Metab Disord*, 9 (2008): 67-70.
- Lehrnbecher T et al. Perioperative fluid and electrolyte management in children undergoing surgery for craniopharyngioma. A 10-year experience in a single institution. *Childs Nerv Syst*, 14 (1998): 276-279.
- Leroy C et al. Diabetes insípida. *Ann Endocrinol (París)* 74(5-6):496-507, 2013.
- Liz Q et al. Preoperative lanreotide treatment improves outcome in patients with acromegaly resulting from invasive pituitary macroadenoma. *J Int Med Res*, 40 (2012): 517-524.
- Loh JA, Verbalis JG. Diabetes insipidus as a complication after pituitary surgery. *Nat Clin Pract Endocrinol Metabol*, 3 (2007): 489-494.
- López-Macia AA, Picó-Alfonso A. Clínica de la acromegalia: presentación, cuadro clínico y comorbili-dades. *Endocrinol Nutr* 52 (2005): 18-22.
- Losa M et al. Presurgical treatment with somatostatin analogs in patients with acromegaly: Effects on the remission and complication rates. *J Neurosurg*, 104 (2006): 899-906.
- Losa M, von Werder K. Pathophysiology and clinical aspects of the ectopic GH-releasing hormone syn-drome. *Clin Endocrinol* 47 (1997): 123.
- Lucas-Morante T. Acromegalia: guía de tratamiento. *Endocrinol Nutr*, 52 (2005): 57-59.
- Lugo G et al. Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly. *Int J Endocrinol*, 2012 (2012): 540398.
- Luque-Ramírez M et al. The efficacy of octreotide LAR as firstline therapy for patients with newly diag-nosed acromegaly is independent of tumor extension: Predictive factors of tumor and biochemical response. *Horm Metab Res*, 42 (2010): 38-44.
- Maamra M et al. Pegvisomant, a growth hormone-specific antagonist, undergoes cellular internalization. *J Clin Endocrinol Metab*, 89 (2004): 4532-4537.
- McCance DR et al. Bilateral inferior petrosal sinus sampling as a routine procedure in ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1989; 30(2):157-166.
- Maione L et al. No evidence of a detrimental effect of cabergoline therapy on cardiac valves in patients with acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 97 (2012): E1714-E1719.
- Mao ZG et al. Preoperative lanreotide treatment in acromegalic patients with macroadenomas in-creases short-term postoperative cure rates: A prospective, randomised trial. *Eur J Endocrinol*, 162 (2010): 661-666.
- Marazuela M et al. Somatotroph tumor progression during pegvisomant therapy: A clinical and molec-ular study. *J Clin Endocrinol Metab*, 96 (2011): E251-E259.
- Martínez Ruiz M et al. Diagnóstico, tratamiento y resultado a largo plazo en la enfermedad de Cushing. *Un pediatra (Barc)* 59 (2): 183-6, 2003.
- Matano Y et al. Risk of colorectal neoplasm in patient with acromegaly and its relationship with serum growth hormone levels. *Am J Gastroenterol* (2005).

- Mattar P et al. Short- and long-term efficacy of combined cabergoline and octreotide treatment in controlling IGF-I levels in acromegaly. *Neuroendocrinology*, 92 (2010): 120-127.
- Marcos M. Lima-Martínez MM y col. Manejo de pacientes con acromegalia. *Rev Venez Endocrinol Metab* 11(1):39-47, 2013.
- Mazzioti G et al. Effects of somatostatin analogs on glucose homeostasis: A metaanalysis of acromegaly studies. *J Clin Endocrinol Metab*, 94 (2009), pp. 1500-1508.
- Melgar V et al. Diagnóstico y tratamiento actual de la acromegalia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 53 (1):74-83, 2015.
- Melmed B. Acromegaly pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 119 (2009): 5189-5202.
- Melmed S et al. A critical analysis of pituitary tumor shrinkage during primary medical therapy in acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab*, 90 (2005): 4405-4410.
- Melmed S et al. Guidelines for acromegaly management: an update consensus statements. *J Clin Endocrinol Metab* 94 (2009): 1509-1517.
- Melmed S. Nuevos agentes terapéuticos para la acromegalia. *Nat Rev Endocrinol* 12(2):90-8, 2016.
- Méndez Pérez P et al. Tratamiento de la enfermedad de Cushing con ketoconazol. *Un pediatra (Barc)* 70 (4): 366-9, 2009.
- Mestrón A et al. Epidemiology, clinical characteristics, outcome, morbidity and mortality in acromegaly based on the Spanish Acromegaly Registry (Registro Español de Acromegalia, REA). *Eur J Endocrinol*, 151 (2004): 439-446.
- Mestrón A SM. Concepto, epidemiología, morbilidad y mortalidad de la acromegalia. La epidemiología de la acromegalia en España. *Endocrinol Nutr* 52 (2005): 2-6.
- Miccoli M et al. Resultado de la estatura del tratamiento con hormona de crecimiento humano recombinante en niños con acondroplasia: un metaanálisis. *Horm Res Paediatr* 2016; 86 (1): 27-34, 2016.
- Minniti G et al. Echocardiographic evidence for a direct effect of GH/IGF-1 hypersecretion on cardiac mass and function in young acromegalics. *Clin Endocr (Oxf)* 49 (1998): 101-106.
- Minniti G et al. Evolving criteria for post-operative biochemical remission of acromegaly: Can we achieve a definitive cure? An audit of surgical results on a large series and a review of the literature. *Endocr Relat Cancer*, 10 (2003): 611-619.
- Molitch ME. Clinical manifestations of acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1992; 21(3): 597-614.
- Moncada Lorenzo E et al. Resultados iniciales en el tratamiento del enanismo hipofisario con hormona del crecimiento. *Rev Med Univ Navarra* 19(1):49-61, 1975.
- Morris D, Grossman A. El manejo médico del síndrome de Cushing. *Ann NY Acad Sci* 970:119-33, 2002.
- Muller AF, van der Lely AJ. Insights from growth hormone receptor blockade. *Curr Opin Investig Drugs*, 10 (2004): 1072-1079.
- Neggens SJ, van der Lely AJ. Combination treatment with somatostatin analogues and pegvisomant in acromegaly. *Growth Horm IGF Res*, 21 (2011): 129-133.
- Nemergut EC et al. Predictors of diabetes insipidus after transsphenoidal surgery: A review of 881 patients. *J Neurosurg*, 103 (2005): 448-454.
- Neyman A, Eugster EA. Tratamiento de niñas y niños con síndrome de McCune-Albright con pubertad precoz. *Pediatr Endocrinol Rev* 2017; 15 (2): 136-141
- Nieman LK. Diagnóstico del síndrome de Cushing en la era moderna. *Endocrinol Metab Clin North Am* 47(2):259-273, 2018.
- Nieman LK. Síndrome de Cushing: actualización sobre signos, síntomas y detección bioquímica. *Eur J Endocrinol* 173(4):M33-8, 2015.
- Ning S et al. Lanreotide promotes apoptosis and is not radioprotective in GH3 cells. *Endocr Relat Cancer*, 16 (2009): 1045-1055.
- Nomikos P et al. The outcome of surgery in 668 patients with acromegaly using current criteria of biochemical 'cure'. *Eur J Endocrinol*, 152 (2005): 379-387.
- Olson BR et al. Pathophysiology of hyponatremia after transsphenoidal pituitary surgery. *J Neurosurg*, 87 (1997): 499-507.

- Orme SM et al. Mortality and cancer incidence in acromegaly: a retrospective cohort study. United Kingdom Acromegaly Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 83 (1998): 2730-2734.
- Pack SD et al. Estudios genéticos e histológicos de tumores hipofisarios somatomamotrópicos en pacientes con el complejo de pigmentación cutánea manchada, mixomas, hiperactividad endocrina y schwannomas (complejo de Carney). *J Clin Endocrinol Metab* 85: 3860-3865, 2000.
- Parkinson C et al. Gender, body weight, disease activity, and previous radiotherapy influence the response to pegvisomant. *J Clin Endocrinol Metab*, 92 (2007), pp. 190-195.
- Parolin M et al. Acromegalia y ecografía: ¿cómo, cuándo y por qué? *J Endocrinol Invest* 43(3):279-287, 2020.
- Patel YC. Molecular pharmacology of somatostatin receptor subtypes. *J Endocrinol Invest*, 20 (1997): 348-367.
- Petersenn S et al. Pasireotide (SOM230) demonstrates efficacy and safety in patients with acromegaly: A randomized, multicenter, phase II trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 95 (2010): 2781-2789.
- Pines A et al. Gastrointestinal tumors in acromegalic patients. *Am J Gastroenterol* 80 (1985): 266-269.
- Pivonello R et al. El tratamiento de la enfermedad de Cushing. *Endocr Rev* 36 (4): 385-486, 2015.
- Plöckinger U. Medical therapy of acromegaly. *Int J Endocrinol* (2012).
- Pokrajac G et al. Variation in GH and IGF-I assays limits the applicability of international consensus criteria to local practice. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 67 (2007): 65-70.
- Pollock BE et al. Radiosurgery of growth hormone-producing pituitary adenomas: Factors associated with biochemical remission. *J Neurosurg*, 106 (2007): 833-838.
- Powell JS et al. Outcome of radiotherapy for acromegaly using normalization of insulin-like growth factor I to define cure. *J Clin Endocrinol Metab*, 85 (2000): 2068-2071.
- Puig-Domingo M et al. Magnetic resonance imaging as a predictor of response to somatostatin analogs in acromegaly after surgical failure. *J Clin Endocrinol Metab*, 95 (2010): 4973-4978.
- Pumarino H et al. Acromegalia activa y gigantismo: algunas características clínicas de 50 pacientes. *Rev Med Chil* 119 (8): 897-907, 1991.
- Raff SB et al. Anomalías en la secreción de prolactina en pacientes con el síndrome de pigmentación cutánea manchada, mixomas, hiperactividad endocrina y schwannomas (complejo de Carney). *J Pediatr Endocrinol Metab* 13: 373-379, 2000.
- Raff H, Carroll T. Síndrome de Cushing: de los principios fisiológicos al diagnóstico y la atención clínica. *J Physiol* 593(3):493-506, 2015.
- Ramaswami U et al. Treatment of achondroplasia with growth hormone: six years of experience. *Pediatr Res* 1999; 46(4):435-439.
- Reincke M, Petersenn S, Buchfelder M, et al. El registro alemán de acromegalia: descripción de la base de datos y resultados iniciales. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2006; 114: 498-505.
- Ritchie CM et al. Ascertainment and natural history of treated acromegaly in Northern Ireland. *Ulster Med J* 59 (1990): 55-62.
- Robinson C et al. Displasia fibrosa / síndrome de McCune-Albright: perspectivas clínicas y traslacionales. *Curr Osteoporos Rep* 14 (5): 178-86, 2016.
- Ron E et al. Acromegaly and gastrointestinal cancer. *Jr. Cancer* 68 (1991): 1673-1677.
- Roset M et al. Cost of clinical management of acromegaly in Spain. *Clin Drug Investig*, 32 (2012): 235-245.
- Rua C et al. Diagnóstico de la acromegalia. *Medicina y lab.* 17 (2011): 511-531.
- Rybak M et al. Crecimiento, peso corporal y maduración ósea en niños con enanismo hiposomatotrófico en tratamiento con hormona de crecimiento humana. *Mater Med Pol* 8(1): 21-5, 1976.
- Salenave S et al. Acromegalia y síndrome de McCune-Albright. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99 (6): 1955-69.
- Sandret L et al. Place of cabergoline in acromegaly: A meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 96 (2011): 1327-1335.
- Sane T et al. Hyponatremia after transsphenoidal surgery for pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 79 (1994): 1395-1398.

- Santos S y col. Diagnóstico y diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing. *Endocrinol Nutr* 56:71-84, 2009.
- Sata A et al. Hyponatremia after transsphenoidal surgery for hypothalamo-pituitary tumors. *Neuroendocrinology*, 83 (2006): 117-122.
- Sata A, Ho KK. Growth hormone measurements in the diagnosis and monitoring. *Pituitary*. 2007; 10(2): 165-72.
- Schneider HJ et al. Alta prevalencia de acromegalia bioquímica en pacientes de atención primaria con niveles elevados de factor de crecimiento similar a la insulina-1. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 69: 432-5.
- Schreiber I et al. Treatment of acromegaly with the GH receptor antagonist pegvisomant in clinical practice: Safety and efficacy evaluation from the German Pegvisomant Observational Study. *Eur J Endocrinol*, 156 (2007): 75-82.
- Schrier RW et al. Tolvaptan, a selective oral vasopressin V2-receptor antagonist for hyponatremia. *N Engl J Med*, 355 (2006): 2009-2112.
- Sherlock M et al. Medical therapy in patients with acromegaly: Predictors of response and comparison of efficacy of dopamine agonist and somatostatin analogs. *J Clin Endocrinol Metab*, 94 (2009): 1255-1263
- Sherlock M et al. Mortality in patients with pituitary disease. *Endocr Rev*, 31 (2010): 301-342.
- Sherlock M et al. Terapia médica en acromegalia. *Nat Rev Endocrinol* 7(5):291-300, 2011.
- Sherlock M, Thompson CJ. The syndrome of inappropriate antidiuretic hormone: Current and future management options. *E J Endocrinol*, 162 (2010): S13-S18.
- Sheppard MC. GH and mortality in acromegaly. *J Endocrinol Invest* 2005; 28(11):75-77.
- Shibli-Rahhal A et al. Síndrome de Cushing. *Clin Dermatol* 24 (4): 260-5, 2006.
- Singer PA, Sevilla LJ. Postoperative endocrine management of pituitary tumors. *Neurosurg Clin N Am*, 14 (2003): 123-138.
- Sinha A et al. Objective assessment of thirst recovery in patients with adipsic diabetes insipidus. *Pituitary*, 14 (2011): 307-311.
- Spencer T et al. El espectro clínico del síndrome de McCune-Albright y su tratamiento. *Horm Res Paediatr* 92 (6): 347-356, 2019.
- Steele A et al. Postoperative hyponatremia despite near-isotonic infusión: a phenomenon of desalinization. *Ann Intern Med*, 126 (1997): 20-25.
- Schteingart DE: Medicamentos en el tratamiento médico del síndrome de Cushing. *Opinión de expertos Emerg Drugs* 14: 661- 671, 2009.
- Stratakis CA: Genética de los tumores adrenocorticales: complejo de Carney. *Ann Endocrinol (París)* 62: 180-184, 2001.
- Taylor SL et al. Delayed onset of hyponatremia after transsphenoidal surgery for pituitary adenomas. *Neurosurgery*, 37 (1995): 649-654.
- Terzolo M et al. Colonoscopic screening and follow up in patients with acromegaly: a multicenter study in Italy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(1): 84-90.
- Terzolo M et al. High prevalence of colonic polyps in patients with acromegaly influence of sex and age. *Arch Intern Med* 154 (1994): 1272-1276.
- Thompson CJ et al. The osmotic thresholds for thirst and vasopressin release are similar in healthy man. *Clin Sci (Lond)*, 71 (1986): 651-656.
- Tomita A et al. Follow-up study on treatment in 27 patients with Cushing's disease: adrenalectomy, transsphenoidal adenomectomy and medical treatment. *Endocrinol Jpn* 1981; 28(2):197-205.
- Trainer PJ et al. A randomized, controlled, multicentre trial comparing pegvisomant alone with combination therapy of pegvisomant and long-acting octreotide in patients with acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 71 (2009): 549-557.
- Trainer PJ et al. Treatment of acromegaly with the growth hormone-receptor antagonist pegvisomant. *N Engl J Med*, 342 (2000): 1171-1177.
- Tritos NA et al. Manejo de la enfermedad de Cushing. *Nat Rev Endocrinol* 7: 279-289, 2011.

- Tufano M et al. Características auxiliares y endocrinológicas en niños con síndrome de McCune Albright: una revisión. *Front Endocrinol (Lausana)* 2020; 11: 522.
- van der Lely AJ et al. Long-term safety of pegvisomant in patients with acromegaly: Comprehensive review of 1288 subjects in ACROSTUDY. *J Clin Endocrinol Metab*, 97 (2012): 1589-1597.
- van der Lely AJ et al. Long-term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist. *Lancet*, 358 (2001): 1754-1759.
- Velasco MV, Runkle I. Aspectos actuales del síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética/síndrome de antidiuresis inadecuada. *Endocr Nutr*, 57 (2010): 22-29.
- Verbalis JG et al. Hyponatremia treatment guidelines 2007: Expert panel recommendations. *Am J Med*, 120 (2007), pp. S1-S21.
- Verbalis JG. Disorders of body water homeostasis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 17 (2003): 471-503.
- Verbalis JG. Managing hyponatremia in patients with syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. *Endocr Nutr*, 57 (2010): 30-40.
- Veugelers M et al. Análisis comparativo de genotipo-fenotipo PRKAR1A en humanos con complejo de Carney y ratones haploinsuficientes de *prkar1a*. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 14222-14227, 2004.
- Vieira Neto L et al. Somatostatin receptors subtypes 2 and 5, dopamine receptor type 2 expression and *gsp* status as predictors of octreotide LAR responsiveness in acromegaly. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 52 (2008). 1288-1295.
- Vilar L et al. Acromegalia: características clínicas en el momento del diagnóstico. *Pituitaria* 20(1):22-32, 2017.
- Villabona C. Antagonistas del receptor de vasopresina: los vaptanes. *Endocr Nutr*, 57 (2010): 41-52.
- Wagner-Bartak NA et al. Síndrome de Cushing: características de diagnóstico y diagnóstico por imagen, con correlación clínica y patológica. *AJR Am J Roentgenol* 209(1):19-32, 2017.
- Wassenaar MJ et al. Arthropathy in long-term cured acromegaly is characterised by osteophytes without joint space narrowing: A comparison with generalised osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 70 (2011): 320-325.
- Wilches VC et al. El miembro asimétrico (gigantismo): Aproximación diagnóstica. *Rev Colomb Radiol* 2009, 20(4).
- Wright AD et al. Mortality in acromegaly. *Q J Med* 39 (1970): 1-16.
- Yin Z et al. Rol diferencial de las subunidades catalíticas de PKA en la mediación de fenotipos causados por la desactivación del gen *Prkar1a* del complejo de Carney. *Mol Endocrinol* 25: 1786-1793, 2011.
- Yin Z et al. La eliminación específica de la pituitaria del gen del complejo de Carney *Prkar1a* conduce a la tumorigénesis pituitaria. *Mol Endocrinol* 22: 380-387, 2008.
- Zada G et al. Recognition and management of delayed hyponatremia following transsphenoidal pituitary surgery. *J Neurosurg*, 106 (2007): 66-71.

CAPÍTULO 18

PROLACTINOMAS EXPERIMENTALES

18.1 Prolactinomas y estrógenos

Los adenomas pituitarios representan las neoplasias primarias de localización intracraneana más frecuente, ya que 6.6 a 9.1% se localizan en el cerebro y en el sistema nervioso central, con una incidencia anual de 0.8 a 8 por 100.000 personas/año (Surawicz y col., 1999; Nilsson y col., 2000; Kheirollahi y col., 2015). Hay más casos en mujeres (20-45 años) al comparar con hombres (35-60 años) (Davis y col., 2000 y 2001).

Según Ezzat y col. (2004), los adenomas pituitarios tienen una incidencia de 16.7%. Aunque la mayor parte de los adenomas son benignos y rara vez devienen malignos, pueden tener una conducta agresiva cuando ejercen una compresión de masa asociada a una secreción hormonal alterada (Ezzat y Asa, 2006).

El estradiol y el dietilestilbestrol han sido vistos como inductores de prolactinomas en ratas hembras entre las 2 a 4 semanas. Las mujeres que toman anticonceptivos orales desarrollan a menudo un incremento de los niveles de PRL y tienen mayor incidencia de prolactinomas, aunque no todas las mujeres parecen ser igualmente susceptibles al efecto mitogénico del estradiol (Sarkar y col., 1982; Lloyd, 1983; Shy y col., 1983; Carol y col., 1988; Fahy y col., 1992).

La pituitaria contiene varios factores de crecimiento que afectan la proliferación de las células adenohipofisarias a través de acciones *autocrinas* y *paracrinas*. Los adenomas pituitarios resultan de una anormal producción de tales factores con pérdida de los mecanismos inhibitorios locales por activación o desregulación de las vías mitogénicas (Webster y col., 1989).

Okajima y Harada (2008) comunicaron que la estimulación de las neuronas sensoriales incrementó el flujo tisular y previno la apoptosis por aumento del factor de crecimiento insulino-símil tipo I (**IGF-I**) en varios tejidos. Hay un gran número de factores de crecimiento estrógeno-dependientes que regulan la proliferación, la diferenciación y/o la transformación de la población lactotropa. Algunos de estos factores estrógeno-regulados son el factor de crecimiento epidérmico (**EGF**), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (**PDGF**), el factor de crecimiento transformante α (**TGF α**), el factor de crecimiento fibroblástico (**FGF**), las interleuquinas (**IL**) y los factores de crecimiento insulino-símiles tipos I y II (IGF-I/II) (Daughaday y Rotwein, 1989; Halper y col., 1992; Jones y Clemmons, 1995; Le Roith y col., 1995; Daniels y Martin, 1995; Ray y Melmed, 1997; Sarkar y col., 1998; Honda y col., 1998; Jevjovic y col., 2007).

Los péptidos bioactivos demostrados comprenden: factores de crecimiento, factores hipotalámicos liberadores de hormonas, opioides y otros péptidos que actúan a nivel cerebral y digestivo (Houben y Denef, 1994). Los **IGFs** inhiben la liberación de la GH y la PRL en cultivos de tejidos (Goodyer y col., 1984).

El IGF-I está distribuido en los lóbulos anterior e intermedio de la pituitaria (D'Ercole y col., 1984), pero su expresión no se detectó en las células endocrinas sino en las células foliculo-estelares (FE) (Bach y Bondy, 1992). Aunque el estrógeno es conocido como regulador del **ARNm IGF-I** en pituitarias de ratas normales (Michels y col., 1993, gran número de los adenomas pituitarios estrógeno-inducidos presentaron niveles disminuidos del mismo. Además, la remisión parcial inducida por el antiestrógeno tamoxifeno estuvo asociada al contenido pituitario de **ARNm IGF-I** en dichos adenomas (Hana y col., 1998).

El estrógeno tuvo una acción antiproliferativa al agregar insulina o **IGF-I** en los cultivos primarios de lactotropas (Kawashima y col., 2002; Ishida y col., 2007). El **IGF-I** regula la síntesis y secreción de PRL y GH (Fruchtman y col., 2000) y tiene múltiples funciones en los procesos de crecimiento, diferenciación y supervivencia de los tejidos (Stewart y Rotwein, 1996). Los **IGFs** regulan el mecanismo de retroalimentación de la GH y el peso corporal (Berelowitz y col., 1981; Tannenbaum y col., 1983).

La terapia con **IGF-I** tuvo efecto restaurativo de la función dopaminérgica hipotalámica en las ratas seniles (Hereñú y col., 2007).

Se demostró la expresión diferencial de los transcritos de **ARNmIGF-I** en respuesta a los esteroides y a la GH. Las isoformas de transcripción incluyen la regulación epigenética del empalme y el uso del promotor, así como el ARN y el efecto sobre la estabilidad de los microARNs (Oberbauer, 2013).

18.2 Estereotaxia intrapituitaria: adenovectores

La estereotaxia intrapituitaria del **RAAd-GFP**, vector adenoviral que expresa una variante quimérica de la proteína fluorescente verde, indujo una significativa expresión del **GFP** en la periferia de una estereotáxica aguja, pero sin provocar daño en el resto de la glándula (**fig. 18.1**).

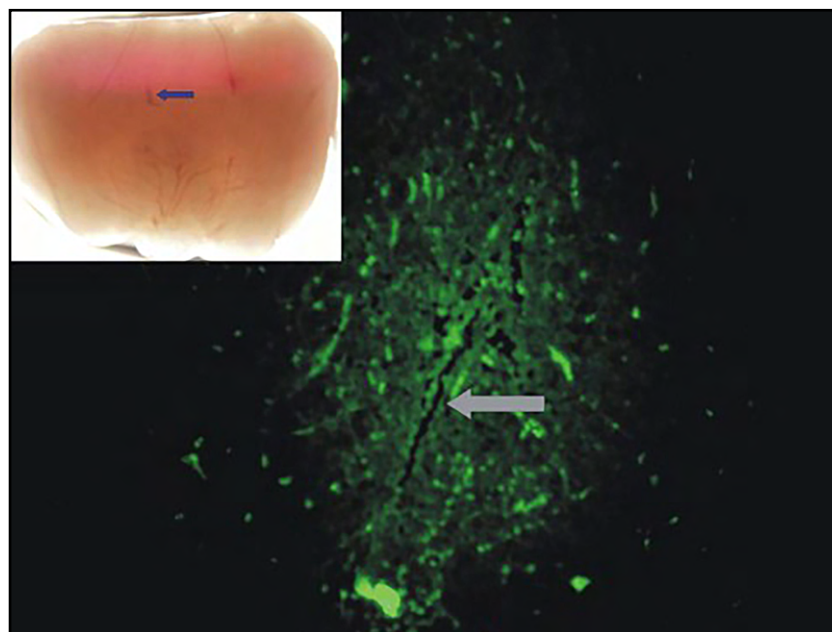


Fig. 18.1 Expresión del transgénico GFP/TK en un adenoma pituitario (Cónsole y col. 2008).

El panel principal muestra la fluorescencia verde de las células transducidas alrededor del punto de entrada de la aguja estereotáxica usada para liberar el **RAAd-GFP/TK** dentro del tumor (flecha). El recuadro presenta con bajo aumento el mismo adenoma pituitario donde puede verse el orificio de entrada de la aguja (flecha). Ningún cambio estructural es evidente como consecuencia de la inyección.

20.3 Poblaciones hipofisarias: terapia génica: estrógenos + Rad-IGF-I

La **fig. 18.2** muestra el efecto de la terapia génica con **E+RAD-IGF-I** sobre las poblaciones lactotropa, somatotropa y tirotrópa respecto a **E+RAD-GFP** (vector control).

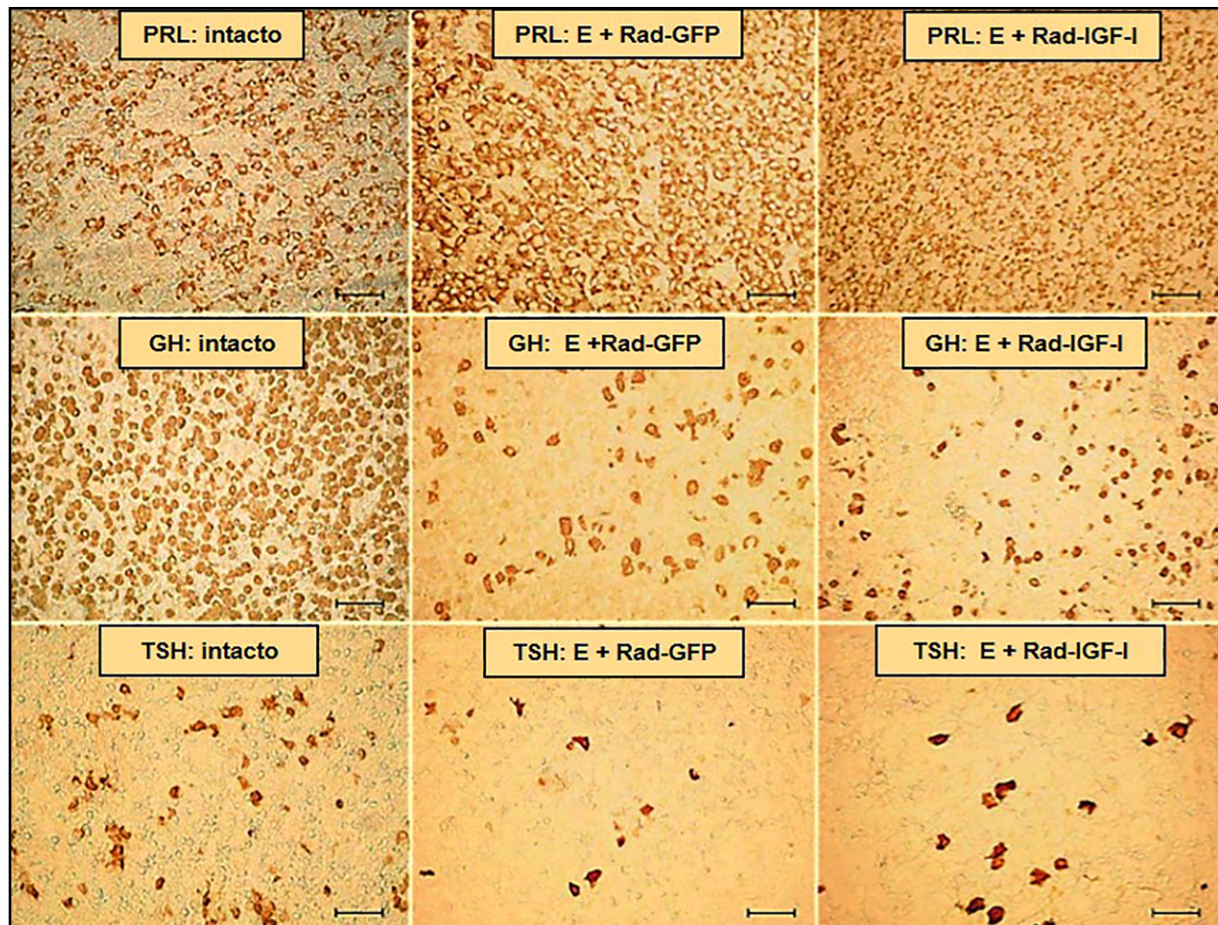


Fig. 18.2 Efectos de la terapia génica sobre las poblaciones pituitarias (Camihort y col. 2010).

Grupos: intacto, estrógenos (E) + RAD-GFP y E + RAD-IGF-I sobre las poblaciones lactotropa (PRL), somatotropa (GH) y tirotrópa (TSH). (EnVision peroxidasa, anti-PRL/GH/TSH, x 300).

La terapia génica con **RAAd-IGF-I** en adenomas estrógeno-inducidos fue también beneficiosa para la población somatotropa. De acuerdo con Stefaneanu y col. (1999), el hecho de que la administración de **RAAd-IGF-I** no restauró el tamaño celular de las somatotropas revela la importancia del IGF-I localmente producido. La administración subcutánea continua de **IGF-I** (7-21 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) demostró un descenso mayor al 50% en los niveles de GH. El **IGF-I** suprimió el número de pulsos de la GH y la masa de GH secretada por pulso (Ray y Melmed, 1997). En línea con estos resultados, nuestros datos mostraron que la administración intrapituitaria de RAAd-IGF-I bajó los niveles de GH.

Además, Chandrashekar y Bartke (2003) especularon acerca del rol del sistema IGF-I, marcando diferencias relacionadas con diversas enfermedades que afectan los ejes somatotrofo y lactotrofo. Nuestro modelo experimental con **RAAd-IGF-I** resultó efectivo para disminuir el tamaño de las somatotropas y bajar los niveles circulantes de la GH, probablemente inhibiendo su secreción (Cónsole y col., 2009).

La administración diaria de benzoato de estradiol en ratas machos llevó a un incremento de la respuesta de la TSH circulante a la TRH después de 7 días de tratamiento, mientras el nivel basal de la TSH permaneció sin cambios y también aumentó la concentración plasmática de la PRL basal en respuesta a la TRH (De Lean y Labrie, 1977).

El estradiol es un importante mitógeno de las células tiroideas en ratas, estimulando la acción de la TSH y teniendo un efecto estimulador sobre la proliferación (Banu y col., 2002). El efecto estimulador del IGF-I en nuestros prolactinomas está en línea con lo comunicado en las células tiroideas, donde el IGF-I ha potenciado la proliferación inducida por TSH *in vitro*. Un incremento en la acción del IGF-I puede llevar a la potenciación de las señales de la TSH en la célula tiroidea (Kimura y col., 2001).

La administración de estradiol en ratas hembras disminuyó la respuesta de la ACTH al estrés (Young y col., 2001). Estos resultados concuerdan con nuestros datos que mostraron un efecto inhibitorio sobre la población corticotropa (Cónsole y col., 2009).

El IGF-I parece ser producido en las corticotropas, indicando su particular importancia en la respuesta al estrés. El IGF-I de las células endocrinas puede controlar la síntesis y la liberación hormonal de una manera autocrina-paracrina, así como prevenir la apoptosis y estimular la proliferación (Eppler y col., 2007). El IGF-I indujo un significativo descenso en el TC de las corticotropas, sin cambios en la DC, con respecto al grupo E₂ + Rad-GFP (Camihort y col., 2010). Estos datos concuerdan con los hallazgos comunicados por van Wijk y col. (1998), quienes establecieron que el IGF-I intrapituitario no tiene efectos estimulantes sobre las células tumorales corticotropas de perros.

La **fig. 18.3** muestra el efecto de la terapia génica de E+Rad-IGF-I sobre las poblaciones corticotropa, foliculotropa y luteinizante.

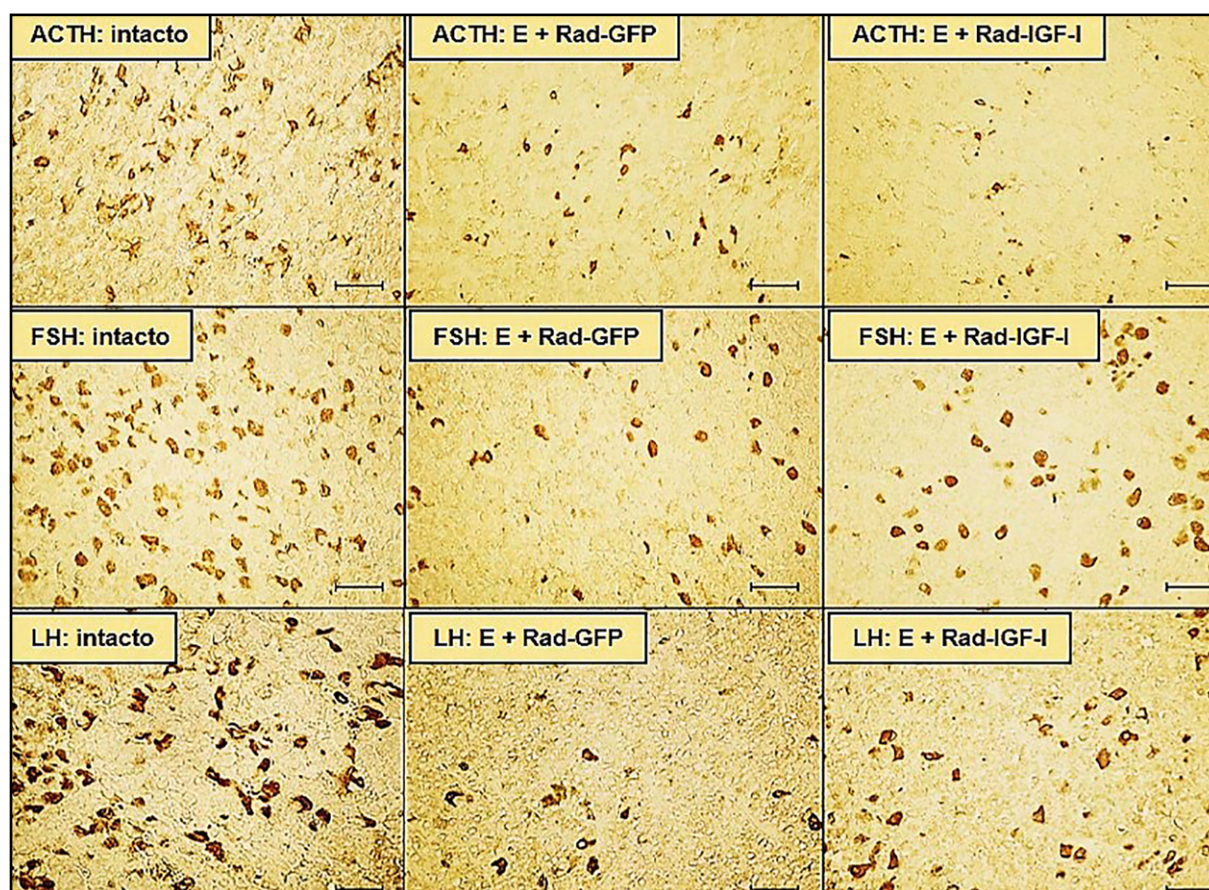


Fig. 18.3 Efectos de la terapia génica sobre las poblaciones pituitarias. (Camihort y col. 2010).

Grupos: intacto, estrógenos (E) + Rad-GFP y E₂ + Rad-IGF-I sobre las poblaciones corticotropa (ACTH), foliculotropa (FSH) y luteinizante (LH). (EnVision peroxidasa, anti-ACTH/FSH/LH, x 300).

La biosíntesis y secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) están bajo el control excitatorio e inhibitorio mediante un número de factores paracrinos, incluyendo el IGF-I, el cual puede modificar la síntesis de la GnRH y sus acciones sobre las gonadotropas (Chandrashekar y Bartke, 2003). Tilemans y col. (1992) demostraron que el desarrollo de las lactotropas, somatotropas y corticotropas de rata es modulado por la GnRH y que esta acción es mediada por factores de crecimiento liberados por

las gonadotropas. Los cambios inducidos por los estrógenos en la *pars distalis* pueden estar asociados con efectos sobre las gonadotropas, relacionados con el mecanismo de retroalimentación negativo o en conexión a otras células pituitarias (Blake y col., 2005). El estradiol y el IGF-I ejercieron efectos antiapoptóticos y controlaron el tamaño de las gonadotropas (Melamed y col., 1999). El grupo **E2 + RAd-IGF-I**, pero no el **E2 + RAd-GFP**, revirtió este descenso en el tamaño y la densidad celular de las gonadotropas confirmando el efecto restaurativo del IGF-I transgénico sobre los tumores pituitarios estrógeno-inducidos (Cónsole y col., 2009). La incubación de células pituitarias con **IGF-I** por 7 a 10 días en salmones resultó en una mayor liberación de FSH, con mantenimiento del contenido celular de FSH y LH (Baker y col., 2000). El efecto estimulador del **IGF-I** sobre la síntesis de LH en el salmón Atlántico fue ejercido a través del incremento específico del nivel de transcripción de la subunidad β (Schmitz, 2004). El **IGF-I** tuvo efectos diferenciales sobre las gonadotropinas de los adenomas de la pituitaria anterior, estimulando la FSH e inhibiendo o sin efecto sobre la LH *in vitro*, con un incremento de la viabilidad y del número de las células secretoras de glicoproteínas tumorales al entrar en fase S de proliferación (Atkin y col., 1993). La secreción de PRL fue inhibida de modo tónico por la dopamina hipotalámica y los esteroides ováricos controlaron su liberación, actuando sobre la población lactotropa (DeMaría y col., 2000).

El tratamiento parece actuar principalmente sobre el tamaño de las células lactotropas y su actividad secretoria, sin alteraciones en el número de células. Los datos son congruentes con los trabajos documentados en los que los adenomas pituitarios estrógeno-inducidos presentaron niveles disminuidos del contenido de **ARNm IGF-I** y que el tamoxifeno incrementó en los adenomas involutivos (Hána y col., 1998). Nuestros resultados también concuerdan con la evidencia de que el estrógeno tuvo una acción antiproliferativa sobre las lactotropas en presencia de insulina o IGF-I (Kawashima y col., 2002; Ishida y col., 2007).

Aunque se han hecho importantes avances en el tratamiento de los tumores pituitarios con cirugía, quimioterapia y ensayos farmacológicos, aun no se ha tenido una respuesta totalmente satisfactoria (Shimon y Melmed, 1998). En este contexto, la terapia génica aparece como una potencial alternativa para el tratamiento de los tumores pituitarios. Un vector adenoviral, el **RAdTK**, transportando el **HSV-1** con el gen suicida timidina quinasa (**TK**), bajo control del promotor del citomegalovirus humano (**hCMV**), fue usado para transferir el gen **TK** en las células tumorales pituitarias GH₃ y AtT₂₀ de roedores con una prodroga ganciclovir que causó la destrucción de los cultivos porque la fosforilación deviene tóxica al **TK** viral (Windeatt y col., 2000). En el mismo estudio, los prolactinomas inducidos con estrógenos fueron inyectados mediante estereotaxia con **RAdTK**. Las inyecciones subsecuentes en animales huéspedes con 2 dosis diarias intrapituitarias de 25 mg de ganciclovir/kg durante 7 días determinaron una reducción parcial del tamaño tumoral y de los niveles séricos de PRL. Otro tipo de estrategia de terapia génica para el tratamiento de los tumores pituitarios se basa en la transferencia de genes con habilidad para rescatar el fenotipo normal de las células neoplásicas, en base al que se implementó en los ratones heterocigotas para el retinoblastoma con gen supresor (ratón Rb^{+/-}). El gen del retinoblastoma es el supresor tumoral prototipo. Los tumores pituitarios espontáneos melanotropos que surgen en ratones Rb^{+/-} fueron tratados con un adenovirus recombinante que lleva el **ADNc RB** y se logró la disminución de la proliferación tumoral (Hu y col., 1994; Riley y col., 1996).

El mecanismo por el cual la sobreexpresión pituitaria del **IGF-I** inhibió el crecimiento de las lactotropas y la secreción de PRL no está claro. Aunque el estrógeno es conocido que incrementa la expresión pituitaria de **ARNm IGF-I**, esto también aumenta la expresión del **ARNm IGF-BP2** (proteína 2 unida al IGF) (Michels y col., 1993). Ya que nuestro ensayo involucra la sobreexpresión pituitaria del transgénico **IGF-I**, es probable que haya un concomitante incremento de **IGF-BP2**. Existe la posibilidad de que los altos niveles de **IGF-I** libre ejerzan un efecto inhibitorio sobre las lactotropas.

Está bien establecido que el **IGF-I** actúa como un potente mecanismo de retroalimentación negativo sobre las somatotropas (Morita y col., 1987; Yamashita y Melmed, 1987), ya que las lactotropas y somatotropas tienen un origen común, parece concebible de que las concentraciones pituitarias de **IGF-I libre** puedan tener una acción inhibitoria sobre las lactotropas. Los niveles séricos de IGF-I bioactivo disminuyeron con la edad en adultos sanos (Vestergaard y col., 2013). Además, se ha comunicado que los ratones hembras heterocigotas 129/SvPas con inactivación del receptor de IGF-I (**RIGF-I**) extendieron su vida útil, logrando una mayor longevidad (Xu y col., 2014).

18.4 Terapia génica en la población lactotropa: estrógenos + Rad-IGF-I

En la **fig. 18.4** se muestra la inmunomarcación de la población lactotropa en los diferentes grupos: intacto ; sólo estrógenos ; estrógenos más adenovectores recombinantes **RAAd-GFP** (control) y **RAAd-IGF-I** (estrógenos 4 semanas). Se halló un aumento del tamaño celular (TC) en el grupo sometido sólo a estrógenos, con incremento de la densidad celular (DC) asociada a menor tamaño celular (TC) en el grupo **Rad-IGF-I**, respecto a controles.

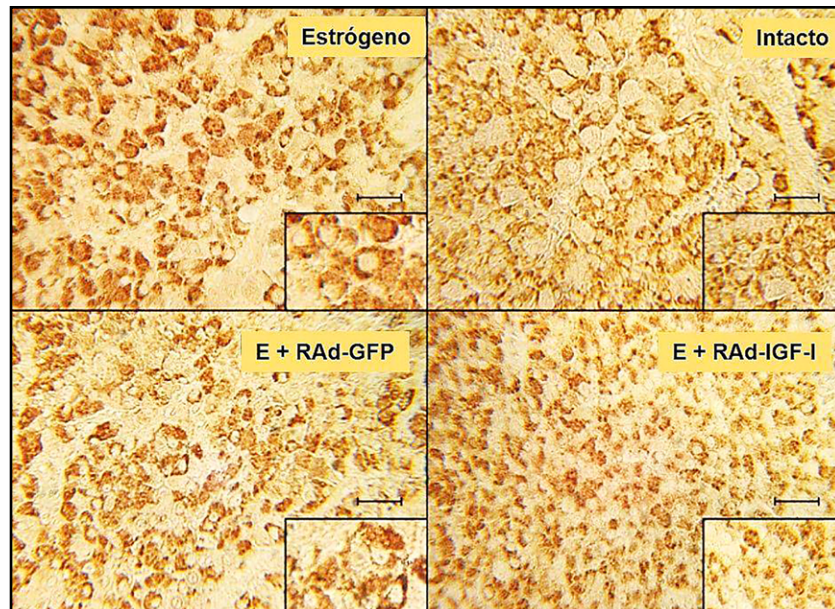


Fig. 18.4 Efecto de la terapia génica con E + Rad-IGF-I sobre la población lactotropa sometida a 4 semanas de tratamiento con estrógenos (Cónsole y col. 2008). Campos representativos de las lactotropas inmunomarcadas en las pituitarias de ratas. Grupos: **intacto; sólo estrógeno; E + RAAd-GFP** y **E + RAAd-IGF-I**. Recuadros: mayor aumento de las muestras (EnVision peroxidasa, anti-PRL).

El análisis morfométrico luego de 4 semanas de estrógenos, reveló en la población lactotropa un significativo ($p < 0.01$) incremento de la densidad de células (DC) en los animales a los que se les administró estrógenos, pero no el vector control, al comparar con ratas intactas. Siete días de terapia génica en el grupo **E2 + Rad-IGF-I** no afectó la DC pero disminuyó el tamaño celular (TC) (**fig. 18.5**).

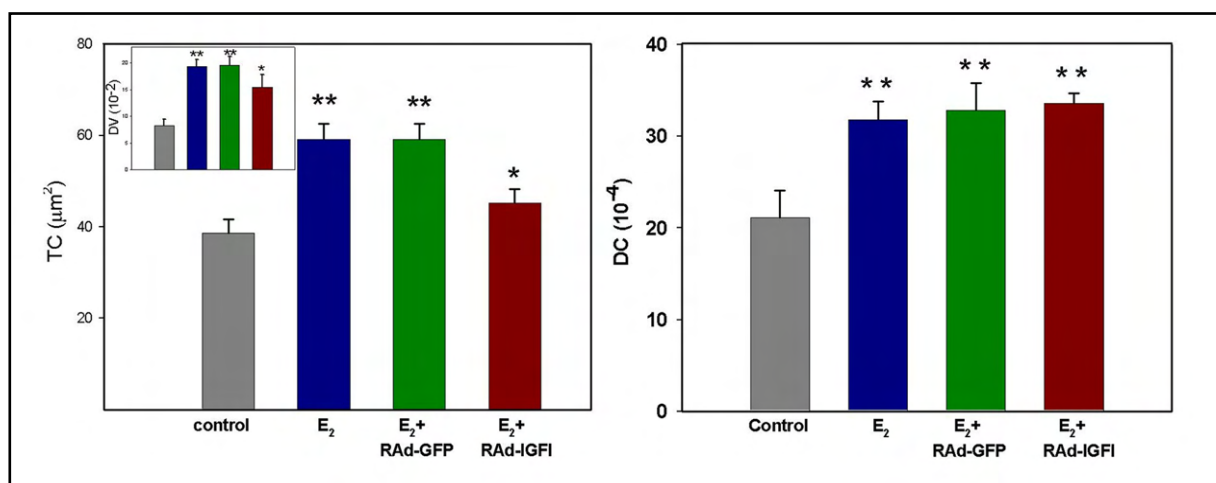


Fig. 18.5 Histometría de la población lactotropa sometida a 4 semanas de estrógenos. (Cónsole y col., 2008).

Las columnas representan los valores promedio mientras la barras sobre las columnas marcan los valores \pm ES. Se ensayaron 5 pituitarias por grupo. Los asteriscos indican las mayores diferencias significativas respecto al grupo intacto ($p < 0.05$).

La administración de estrógenos indujo una marcada hiperprolactinemia en animales con adenomas. Luego de 7 días de la inyección estereotáxica intrapituitaria de **RAAd-IGF-I**, pero no de **RAAd-GFP**, pudo verse un significativo ($p < 0.01$) descenso de la PRL sérica en ratas tratadas con estrógenos. Sin embargo, la PRL sérica de ratas tratadas con **RAAd-IGF-I** permanece con altos niveles propios de las ratas intactas (**fig. 18.6**).

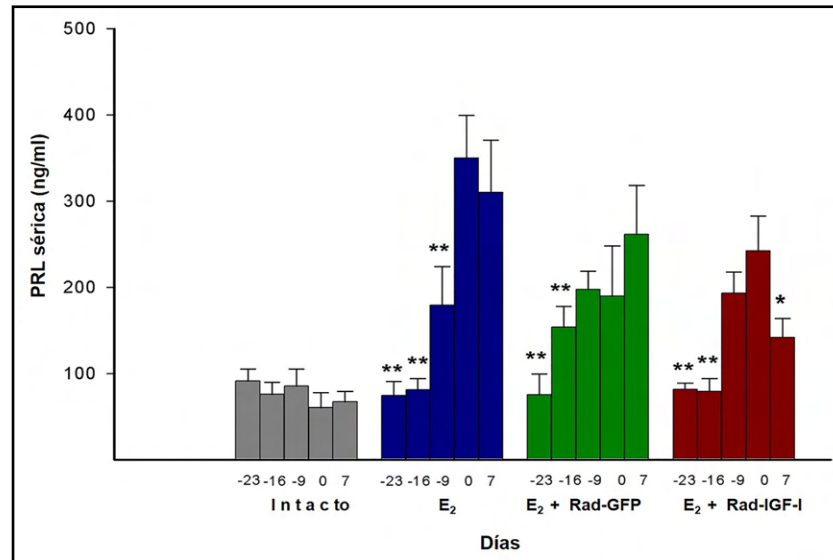


Fig. 18.6 Efecto de la terapia génica con IGF-I sobre los niveles séricos de PRL .

(Cónsole y col., 2008).

PRL sérica: muestras sanguíneas seriadas tomadas desde el día experimental -23 al día experimental 7. Los asteriscos indican diferencias significativas de la PRL sérica en relación al día experimental 0 (inyección del vector), * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

La terapia génica con **RAAd-IGF-I** confirmó que en los prolactinomas inducidos con estrógenos se redujo parcialmente la marcada hiperprolactinemia y se revirtieron los cambios fenotípicos en la población lactotropa (Cónsole y col., 2008).

Se concluye que la terapia génica con **IGF-I** tiene un efecto beneficioso sobre los tumores pituitarios estrógeno-inducidos y resta determinar si el **IGF-I** puede tener efectos sobre otros adenomas pituitarios. La terapia génica con **IGF-I** podría ser una efectiva terapia adyuvante de los tratamientos convencionales de los tumores pituitarios humanos (Rodríguez y col., 2009).

Referencias

- Atkin S et al. Differential effect of insulin-like growth factor I on the hormonal product and proliferation of glycoprotein-secreting human pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 77(4):1059-66, 1993.
- Bach M, Bondy C. Anatomy of the pituitary insulin-like growth factor system. *Endocrinology* 131(6):2588-94, 1992.
- Baker D et al. Insulin-like growth factor I increases follicle-stimulating hormone (FSH) content and gonadotropin-releasing hormone-stimulated FSH release from coho Salmon pituitary cells in vitro. *Biol Reprod* 63(3):865-871, 2000.
- Banu SK, Govindarajulu P, Aruldas MM. Testosterone and estradiol differentially regulate TSH-induced thyrocyte proliferation in immature and adult rats. *Steroids* 67(7):573-579, 2002.
- Berelowitz M et al. Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary. *Science* 212(4500):1279-81, 1981.
- Blake CA et al. Estrogen regulation of the rat anterior pituitary proteome. *Exp Biol Med (Maywood)* 230(11):800-807, 2005.
- Burek JD. Pathology of aging rats. In: CRC Press, Boca Raton, FL, 1978.
- Camihort GA, Hereñú CB, Luna GC, Rodríguez SS, Bracamonte MI, Goya RG, Cónsole GM. Morphological changes induced by insulin-like growth factor-I gene therapy in pituitary cell populations in experimental prolactinomas. *Cells Tissues Organs* 191(4):316-325, 2010.
- Carol W et al. Prolactin stimulation using the metoclopramide test in females taking oral contraceptives. *Zentralbl Gynakol* 110(23):1515-21, 1988.
- Chandrashekar V, Bartke A. The role of insulin-like growth factor-I in neuroendocrine function and the consequent effects on sexual maturation: inferences from animal models. *Reprod Biol* 3(1):7-28, 2003.
- Cónsole GM, Hereñú CB, Camihort GA, Luna GC, Bracamonte MI, Morel GR, Goya RG. Insulin-like growth factor-I gene therapy reverses morphologic changes and reduces hyperprolactinemia in experimental rat prolactinomas. *Mol Cancer* 7:13, 2008.
- Cónsole GM, Hereñú CB, Camihort GA, Luna GC, Ferese C, Goya RG. Effect of insulin-like growth factor-I gene therapy on the somatotropic axis in experimental prolactinomas. *Cells Tissues Organs* 190(1):20-26, 2009.
- Davis FG et al. Prevalence estimates for primary brain tumors in the United States by behavior and major histology groups. *Neuro Oncol* 3(3):152-158, 2001.
- Davis FG, McCarthy B. Epidemiology of brain tumors. *Curr Opin Neurol* 13(6):635-640, 2000.
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(3):935-939, 1984.
- Daniels GH, Martin JB. Neuroendocrine regulation and diseases of the anterior pituitary and hypothalamus. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. In: eds. Isselbacher KJ, Braunwald E., Wilson J.D., Martin J.B., Fauci A.S & Kasper D.L. McGraw-Hill, New York, 1995:1891-1918.
- Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10(1):68-91, 1989.
- De Laen A, Labrie F. Sensitizing effect of treatment with estrogens on TSH response to TRH in male rats. *Am J Physiol* 233(3): E235-239, 1977.
- DeMaría JE, Livingstone JD, Freeman ME. Ovarian steroids influence the activity of neuroendocrine dopaminergic neurons. *Brain Res* 879(1-2): 139-147, 2000.
- Eppler E et al. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and its receptor (IGF-1R) in the rat anterior pituitary. *Eur J Neurosci* 25(1):191-200, 2007.
- Ezzat S et al. La prevalencia de los adenomas hipofisarios: una revisión sistemática. *Cancer* 2004; 101(3):613-619, 2004.

- Ezzat S, Asa SL. Mechanisms of disease: the pathogenesis of pituitary tumors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2(4):220-230, 2006.
- Fahy UM et al. The effect of combined estrogen/progestogen treatment in women with hyperprolactinemic amenorrhea. *Gynecol Endocrinol* 6(3):183-188, 1992.
- Fruchtman S, Jackson L, Borski R. Insulin-like growth factor I disparately regulates prolactin and growth hormone synthesis and secretion: studies using the teleost pituitary model. *Endocrinology* 141(8):2886-94, 2000.
- Goodyer CG et al. Effects of insulin-like growth factors on adult male rat pituitary function in tissue culture. *Endocrinology* 115(4):1568-76, 1984.
- Halper J et al. Presence of growth factors in human pituitary. *Lab Investigation* 66(5):639-645, 1992.
- Hána V, Haluzik M, Schreiber V. Independence of estrogen-induced pituitary proliferation on local IGF-I mRNA and EGF mRNA expression. Modifying effects of tamoxifen and terguride. *Physiol Res* 47(2):125-131, 1998.
- Hereñú CB et al. Restorative effect of insulin-like growth factor-I gene therapy in the hypothalamus of senile rats with dopaminergic dysfunction. *Gene Therapy* 14(3):237-245, 2007.
- Honda J et al. Insulin-like growth factor-I and its receptor in mouse pituitary glands. *Zool Sci* 15(4):573-579, 1998.
- Houben H, Denef C. Bioactive peptides in anterior pituitary cells. *Peptides* 15(3):547-582, 1994.
- Hu N et al. Heterozygous Rb-1 delta 20/+mice are predisposed to tumors of the pituitary gland with a nearly complete penetrance. *Oncogene* 9(4):1021-29, 1994.
- Ishida M et al. Estrogen actions on lactotroph proliferation are independent of a paracrine interaction with other pituitary cell types: a study using lactotroph-enriched cells. *Endocrinology* 148(7):3131-39, 2007.
- Jevjovic T, Bernays RL, Eppler E. Insulin-like growth factor-I mRNA and peptide in the human anterior pituitary. *J Endocrinol* 19(5):335-341, 2007.
- Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factor and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16(1):3-34, 1995.
- Kawashima K et al. The estrogen-occupied estrogen receptor functions as a negative regulator to inhibit cell proliferation induced by insulin/IGF-1: a cell context-specific antimitogenic action of estradiol on rat lactotrophs in culture. *Endocrinology* 143(7):2750-58, 2002.
- Kheirollahi M et al. Barin tumors: special characters for research and banking. *Adv Biomed Res* 4:4, 2015.
- Kimura T et al. Regulation of thyroid cell proliferation by TSH and other factors: a critical evaluation of in vitro models. *Endocr Rev* 22(5):631-656, 2001.
- LeRoith D et al. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 16(2):143-163, 1995.
- Lloyd RV. Estrogen-induced hyperplasia and neoplasia in the rat anterior pituitary gland. An immunohistochemical study. *Am J Pathol* 113(2):198-206, 1983.
- Melamed P et al. Possible interactions between gonadotrophs and somatotrophs in the pituitary of tilapia: apparent roles for insulin-like growth factor I and estradiol. *Endocrinology* 140(3):1183-91, 1999.
- Michels KM et al. Up-regulation of pituitary [125I]insulin-like growth factor-I (IGF-I) binding and IGF binding protein-2 and IGF-I gene expression by estrogen. *Endocrinology* 132(1):23-29, 1993.
- Morita S, Yamashita S, Melmed S. IGF-I action on rat anterior pituitary cells: effects of intracellular messengers on growth hormone secretion and messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology* 121(6):2000-06, 1987.
- Nilsson B et al. Adenomas hipofisarios en Suecia entre 1958 y 1991: incidencia, supervivencia y mortalidad. *J Clin Endocrinol Metab* 85(4):1420-1425, 2000.
- Oberbauer AM. The regulation of IGF-I gene transcription and splicing during development and aging. *Front Endocrinol (Lausanne)* 4:39, 2013.

- Okajima K, Harada N. Promotion of insulin-like growth factor-I production by sensory neuron stimulation; molecular mechanism(s) and therapeutic implications. *Current Med Chem* 15(29):3095-3112, 2008.
- Ray D, Melmed S. Pituitary cytokine and growth factor expression and action. *Endocr Rev* 18(2):206-228, 1997.
- Riley DJ, Nikitin AY, Lee WH. Adenovirus-mediated retinoblastoma gene therapy suppresses spontaneous pituitary melanotroph tumors in Rb+/- mice. *Nat Med* 2(12):1316-21, 1996.
- Rodríguez S, Castro M, Brown O, Goya R, Cónsole G. Gene therapy of the treatment of pituitary tumors. *Expert Rev Endocrinol Metab* 4(4):359-370, 2009.
- Sarkar DK, Gottschall PE, Meites JP. Damage to hypothalamic dopaminergic neurons is associated with development of prolactin-secreting tumors. *Science* 218:684-686, 1982.
- Sarkar DK et al. Hormonal control of pituitary prolactin secreting tumors. *Front Biosci* 3:934-943, 1998.
- Schmitz M. Differential effect of insulin-like growth factor I on in vitro gonadotropin subunits expression in Atlantic salmon. *Fish Physiol Biochem* 2004; 28:105-106.
- Shimon I, Melmed S. Management of pituitary tumors. *Annals Int Med* 129:472-483, 1998.
- Shy KK et al. Oral contraceptive use and the occurrence of pituitary prolactinoma. *J Am Med Assoc* 249(16):2204-07, 1983.
- Stefaneanu LL et al. Somatotroph and lactotroph changes in the adenohypophysis of mice with disrupted insulin-like growth factor I gene. *Endocrinology* 140(9):3881-89, 1999.
- Stewart CE, Rotwein P. Growth, differentiation, and survival: multiple physiological functions for insulin-like growth factors. *Physiol Rev* 76(4):1005-26, 1996.
- Surawicz TS et al. Descriptive epidemiology of primary brain and CNS tumors: results from Central Brain Tumor Registry of United States, 1990-1994. *Neuro Oncol* 1(1):14-25, 1999.
- Tannenbaum GS, Guyda HJ, Posner BI. Insulin-like growth factors: a role in growth hormone negative feedback and body weight regulation via brain. *Science* 220(4592):77-79, 1983.
- Tilemans D, Andries M, Denef C. Luteinizing hormone-releasing hormone and neuropeptide Y influence deoxyribonucleic acid replication in three anterior pituitary cell types. Evidence for mediation by growth factors released from gonadotrophs. *Endocrinology* 130(2):882-894, 1992.
- van Wijk PA et al. Effects of corticotrophin-releasing hormone, vasopressin and insulin-like growth factor-I on proliferation of an adrenocorticotrophic hormone secretion by canine corticotrophic adenoma cells in vitro. *Eur J Endocrinol* 138(3):309-315, 1998.
- Vestergaard PF et al. Serum levels of bioactive IGF-I and physiological markers of ageing in healthy adults. *Eur J Endocrinol* 170(2):229-236, 2013.
- Webster J et al. Growth factors and pituitary tumors. *Trends Endocrinol Metab* 1(2):95-98, 1989.
- Windeatt S et al. Adenovirus-mediated herpes simplex virus type-1 thymidine kinase gene therapy suppresses oestrogen-induced pituitary prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 85(3):1296-1305, 2000.
- Xu J et al. Longevity effect of IGF-1R (+/-) mutation depends on genetic background-specific receptor activation. *Aging Cell* 13(1):19-28, 2014.
- Yamashita S, Melmed S. Insulin-like growth factor-I regulation of growth hormone gene transcription in primary rat pituitary cells. *J Clin Invest* 79(2):449-452, 1987.
- Young EA et al. Effects of estrogens antagonists and agonists on the ACTH response to restraint stress in female rats. *Neuropsychopharmacology* 25(6):881-891, 2001.

CAPÍTULO 19

ISOFORMAS DE PRL

19.1 Secreción de PRL

La secreción de la prolactina (PRL) está determinada por una sumatoria de factores: la luz que ajusta el ritmo circadiano, las señales provenientes del medio interno-externo y los estímulos asociados al estado reproductivo. Esta información es procesada en el hipotálamo y enviada hacia la hipófisis, a través del sistema porta hipofisario y las terminales axónicas. La PRL es una hormona clave en numerosos procesos fisiológicos que contribuyen a la supervivencia de los seres vivos de las diferentes especies (fig. 19.1).

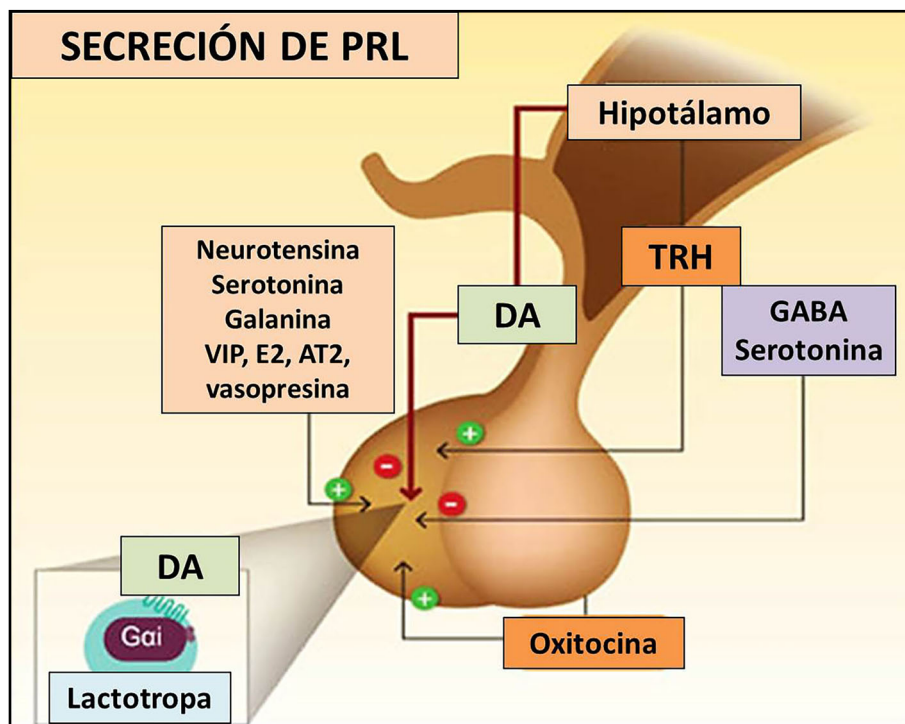


Fig. 19.1 Secreción de PRL (Word Press).

La regulación de la secreción de PRL es principalmente inhibitoria y está mediada por la **dopamina (DA)**. Las neuronas dopaminérgicas de los *núcleos arcuato* y *paraventricular* son las involucradas en la regulación de la PRL. Estas neuronas liberan dopamina (DA) a la región perivascular de

la eminencia media, desde donde el neurotransmisor ingresa a los vasos portales largos y alcanza la adenohipófisis. La **DA** actúa sobre receptores específicos acoplados a proteína Gi (**D2R**) y localizados en la membrana de la lactotropa que inhibe la síntesis y la liberación de PRL. Otros factores inhibidores de la PRL son el ácido γ aminobutírico (**GABA**) y la serotonina. También existen factores estimuladores de la secreción de PRL como *neurotensina*, *oxitocina*, *galanina*, *serotonina* y, la más importante, la *hormona liberadora de tirotropina (TRH)*, si bien su importancia en la regulación fisiológica de la PRL es mínima. La PRL ejerce sus diversos efectos sobre los tejidos blanco al unirse a un receptor de membrana específico (**RPRL**), el cual pertenece a la superfamilia de receptores de citoquinas tipo I, que incluye también al receptor de GH y de varias interleuquinas. El **RPRL** está conformado por un dominio extracelular que se encarga de unir al ligando, una porción transmembrana y un dominio intracelular que está a cargo de la traducción de señal. La señalización de este receptor depende del reclutamiento de la quinasa Janus (**JAK2**), que fosforila sitios específicos de la porción intracelular del **RPRL**. Esto resulta en la fosforilación de **STAT 5** (transductores de señal y activadores de la transcripción), lo cual finalmente da lugar a la regulación en la expresión de diversos genes.

Numerosos estudios sobre la síntesis, el procesamiento y la secreción de PRL han sido realizados utilizando una línea celular GH₃ que deriva de un adenoma hipofisario que puede liberar sólo PRL o GH-PRL, pero es incapaz de almacenar la hormona en los gránulos secretorios. Las transcripciones de los *genes de PRL* se degradan en las células tumorales con un fenotipo somatotropo puro y plantean la posibilidad de una transdiferenciación de mamosomatotropas a somatotropas que implica una regulación post-transcripcional de la expresión génica de la PRL (Billis y col., 1992).

El sistema neuroendocrino regula los ritmos biológicos mediante señales internas desencadenantes de los procesos fisiológicos, a través de la glándula hipófisis, el hipotálamo y la glándula pineal. En la hipófisis se integra la información autocrina y paracrina de la glándula que culmina con la liberación o inhibición de la secreción de la PRL (Denef, 2008).

19.2 Sistemas dopaminérgicos

El hipotálamo es un centro integrador nervioso que sintetiza neuropéptidos y neurotransmisores y un órgano endocrino productor de hormonas que regulan la actividad de la hipófisis.

El *polipéptido activador de la adenilato ciclasa pituitaria (PACAP)* es producido por las neuronas hipotalámicas que llegan a la eminencia media, por lo que es sugerido como una hormona hipofisotrófica. Se estudió la actividad del **PACAP** en animales con lesión hipotalámica que mostraron una estimulación en la liberación de PRL *in vivo*, debido a la ausencia de dopamina (**DA**). En realidad, el **PACAP** estimularía la liberación de un factor paracrino que inhibiría a la población lactotropa (Jarry y col., 1992).

Las neuronas hipotalámicas que sintetizan catecolaminas han sido clasificadas en zonas con letras A1 a A15, de acuerdo a su distribución rostrocaudal en el sistema nervioso central (SNC).

La **DA** es una molécula pequeña cuya atenuación o hiperactividad puede desencadenar trastornos como la enfermedad de Parkinson y la esquizofrenia. La **DA** se une a receptores tipo 2 que están funcionalmente ligados a los canales de membrana y a las proteínas G, suprimiendo la actividad secretora de las lactotropas. La generación de animales transgénicos con genes sobreexpresados o mutados amplió la comprensión de las interacciones DA-PRL.

Las neuronas que sintetizan **DA** en los núcleos periventriculares y arcuato (A14 y A12, respectivamente) dirigen sus axones hacia los capilares primarios de la eminencia media, la *pars intermedia* y la *pars nervosa* proveyendo **DA** a la glándula hipófisis. Se pueden dividir en tres sistemas de acuerdo a la distribución rostrocaudal de las neuronas y a la localización hipofisaria de las terminales nerviosas. La

DA actúa como un inhibidor de la PRL y la hiperprolactinemia se ha beneficiado con la generación de drogas dopaminérgicas selectivas (Ben-Jonathan y Hnasko, 2001) (fig. 19.2).

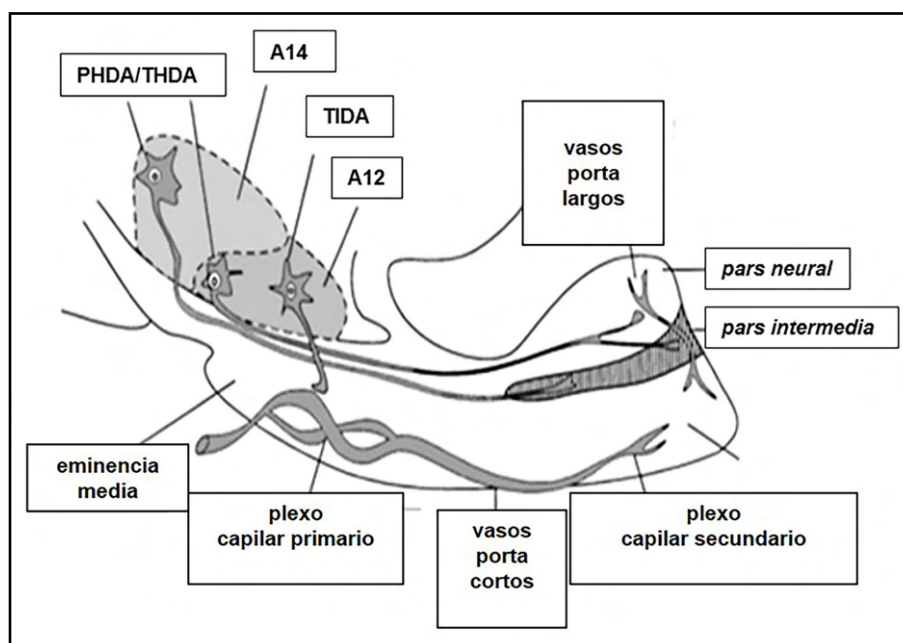


Fig. 19.2 Sistemas hipotalámicos. TIDA: sistema dopaminérgico tuberoinfundibular; PHDA: sistema dopaminérgico periventricular hipotalámico; THDA: sistema dopaminérgico tuberohipofisario (Modificada de Ben-Jonathan y Hnasko, 2001).

A. Sistema dopaminérgico tuberoinfundibular (TIDA): constituido por neuronas de la parte dorso-medial del núcleo arcuato (A12) que proyectan sus axones a la zona externa de la eminencia media, liberando DA en el espacio perivascular de los capilares del sistema porta largo.

B. Sistema dopaminérgico periventricular hipotalámico (PHDA): formado por las neuronas del núcleo periventricular (A14) cuyos axones terminan en la *pars intermedia*.

C. Sistema dopaminérgico tuberohipofisario (THDA): corresponde a las neuronas de la zona rostral del núcleo arcuato (A12), situadas entre los dos grupos anteriores, que proyectan sus axones hacia la *pars intermedia* y *nervosa*.

19.3 La molécula de PRL

La PRL está constituida por una cadena simple de aminoácidos, PM de 23 kDa y posee tres puentes disulfuro que unen residuos de cisteína (Cis⁴-Cis¹¹, Cis⁵⁸-Cis¹⁷⁴ y Cis¹⁹¹-Cis¹⁹⁹, en la PRL humana). El péptido está formado por 199 aminoácidos en humanos y 197 en roedores. La homología en la secuencia de aminoácidos varía entre las especies: la PRL humana se asemeja 62% a la del hámster, 97% a la de monos, y 35% a la PRL del salmón (Sinha, 1995). La estructura secundaria está constituida en un 50% por α -hélice y el resto la conforman plegamientos en forma de rulos, no organizados. La estructura terciaria de la PRL humana se estudió en base a su similitud cristalográfica con la GH porcina, pudiéndose predecir la presencia de cuatro regiones de α -hélice (Goffin y col., 1995). La PRL junto con la GH y los lactógenos placentarios forman una familia de hormonas que resultaron de la duplicación de un gen ancestral (Bole-Feysot y col., 1998). La PRL aparece en una multiplicidad de formas post-traduccionales que varían en el tamaño, presentando modificaciones químicas como fosforilación o glicosilación. Se sintetiza a nivel pituitario y extrapituitario (sistema nervioso, útero, glándula mamaria, timo y bazo) (Freeman y col., 2000).

La PRL es un polipéptido secretado principalmente en las células lactotropas hipofisarias, pero también en: linfocitos T, esplenocitos y macrófagos que presentan una PRL-like con una secuencia idéntica a la hipofisaria. Sin embargo, debido a la presencia de un promotor distal, la expresión del gen linfocitario

es regulada en forma diferente, como así también el control de su secreción (Gala y Shevach, 1994). En la **fig. 19.3** puede observarse la estructura tridimensional de la PRL humana en solución.

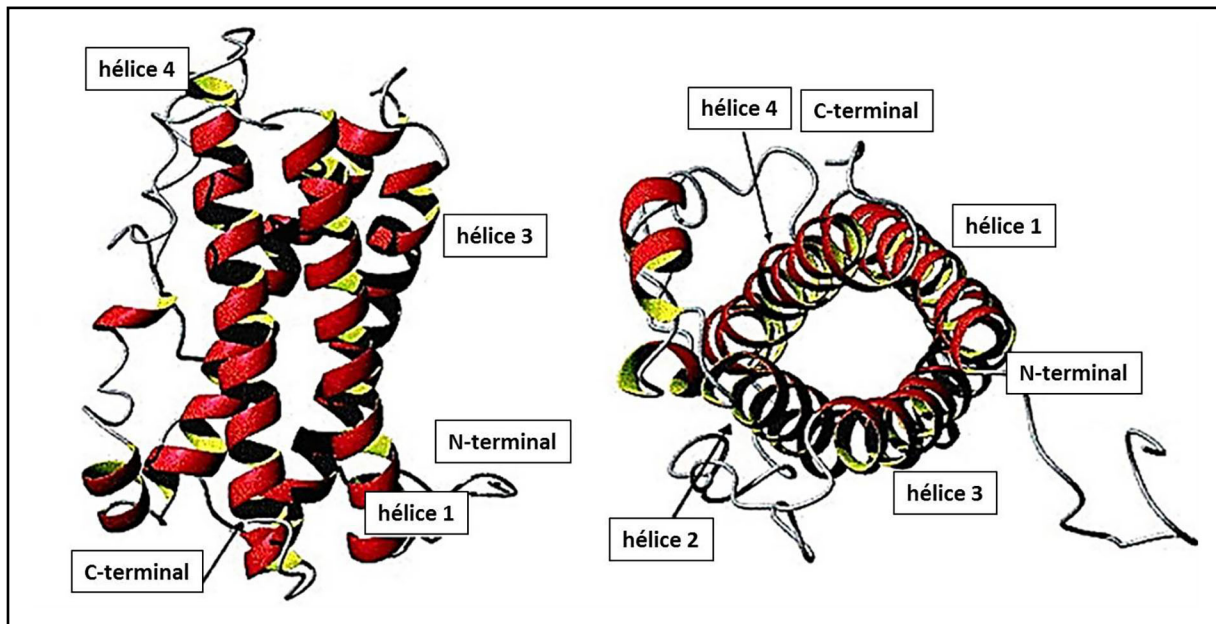


Fig. 19.3 Estructura tridimensional de la PRL humana en solución.

Vista lateral de la molécula de PRL en solución, se observa la presencia de cuatro hélices α . Mediante la rotación de la PRL a 90° hacia atrás, vista desde la parte inferior (Teilmum y col., 2005).

19.4 Los receptores de PRL (fig. 19.4)

El receptor de la PRL (RPRL) es una proteína simple unida a la membrana plasmática que pertenece a la superfamilia de los receptores de citoquinas de clase I (Boutin y col., 1988; Cosman y col., 1990).

Se han caracterizado tres isoformas del receptor de acuerdo a su longitud: larga, intermedia y corta (Boutin y col., 1988; Bole-Feysot y col., 1998).

Las tres isoformas contienen un dominio extracelular, uno transmembrana y otro citoplasmático (Kelly y col., 1991; Lesueur y col., 1991; Bole-Feysot y col., 1998; Kline J. y col. 1999).

Se ha descrito en humanos una isoforma soluble que sería el resultado de un empalme alternativo del ARNm (Trott y col., 2003, Abramicheva y col., 2019).

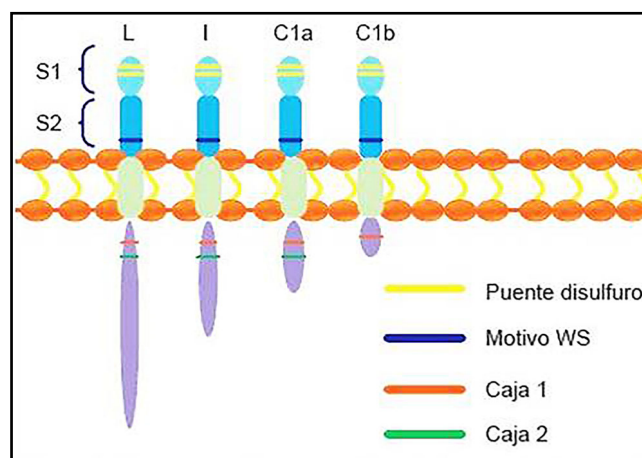


Fig. 19.4 Tres isoformas del receptor de PRL. El dominio extracelular está subdividido en dos subdominios. La porción intracitoplasmática difiere en tamaño y composición (SciELO).

La activación del receptor ocurre a través de un mecanismo que involucra una molécula de PRL y dos del receptor. Inicialmente, una zona de la PRL interactúa con el dominio extracelular de una molécula del receptor y otro sitio de la misma interactúa con otro **R-PRL**, el cual forma un dímero con el primero. Aunque el dominio intracelular del receptor no tiene actividad enzimática intrínseca, la activación que se genera al unirse el ligando fosforila los residuos de tirosina de numerosas proteínas citoplasmáticas, incluyendo al propio receptor (Bole-Feysot y col., 1998). La proteína transductora de señales y activadora de la transcripción (**Stat5**) es el transductor de la señal más importante e interactúa con otros transductores como el receptor de glucocorticoides para iniciar una respuesta específica en la célula. La PRL y los glucocorticoides expresan señales que regulan la transcripción de los genes de las proteínas de la leche en las células epiteliales mamarias (Yang y col., 2013). La **Stat5** y el receptor de glucocorticoides forman un complejo molecular que coopera en la inducción de la transcripción del gen de la β -caseína (Stocklin y col., 1996 y 1997). Las acciones reproductivas de la PRL son mediadas a través del receptor corto y largo de las isoformas (Devi y Halperin, 2014).

La unión de la PRL con su receptor induce la *fosforilación de tirosinas (Tyr)* de distintas proteínas intracelulares, incluyendo al receptor. La región intracelular próxima a la membrana se encuentra constitutivamente asociada a **JAK2**, que se fosforila un minuto después de la interacción PRL-PRL-R. La proteína **JAK2** fosforila a **STAT**, que presenta cinco diferentes dominios:

- Unión al ADN.
- Parecido a **SH2**.
- similar a **SH3**.
- amino terminal.
- carboxilo terminal.

Las **Tyr** fosforiladas de **JAK2** se unen al dominio **SH2** de **STAT**, el cual es fosforilado por la asociación **PRLR-JAK2**. Al encontrarse fosforilado, **STAT** se disocia del receptor formando un homo o heterodímero que es traslocado al núcleo, activando el dominio de unión al ADN; la secuencia que reconoce el homo o heterodímero de **STAT1**, **STAT3** y **STAT5** en el núcleo es una secuencia que activa IFNg (**GAS**) y consiste en una secuencia palindrómica, presente en diferentes promotores (**fig. 19.5**).

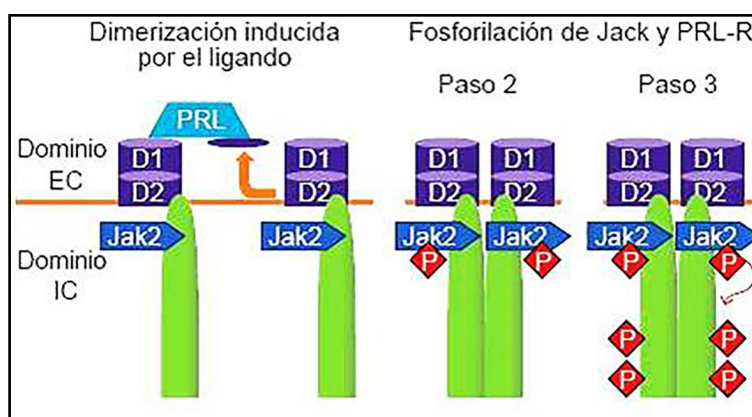


Fig. 19.5 Unión de la PRL con su receptor (SciELO).

Los niveles de PRL en humanos responden a un patrón bifásico. Al mediodía la concentración plasmática alcanza el valor mínimo, luego aumenta levemente en la tarde y se eleva marcadamente durante la noche. En humanos adultos, esta variación representa en promedio un aumento del 250 % respecto al mínimo. La liberación de la PRL se realiza en forma de pulsos, cuya frecuencia es característica de cada individuo, variando entre 7 y 22 pulsos en 24 hs. Esta secreción diaria de PRL responde a un ritmo circadiano generado en el núcleo supraquiasmico del hipotálamo (Waldstreicher y col., 1996). En la rata, a diferencia del humano, hay una fuerte relación entre el patrón del sueño y el nivel de PRL (Obal y col., 1997).

El tono dopaminérgico hipotalámico cambia a través del día (Lerant y Freeman, 1997) y las neuronas dopaminérgicas tuberoinfundibulares (**TIDA**) disminuyen su actividad antes de la elevación diaria del nivel de PRL (Mai y col., 1994). La PRL activa los receptores de isoformas que regulan circuitos neuronales específicos y controla funciones relevantes como la conducta maternal, el balance de energía, la ingesta de alimentos, la respuesta al estrés, la ansiedad, la neurogénesis, la migraña y el dolor. Se están estudiando las vías de señalización neuronal inducidas por la PRL y la modulación del potencial transitorio del receptor neuronal y los canales de Ca²⁺ dependientes de canales K⁺, mediante PRL (Patil y col., 2014).

La PRL estimula la proliferación celular a través de la forma larga del receptor de PRL (**RPRL**). La modulación del canal de K⁺ mediante PRL constituye el evento iónico primario en la señal de transducción que provoca la proliferación celular (Van Coppenolle y col., 2004). Las diferentes isoformas del **RPRL** ejercen una función diferente a través del dominio intracelular. Se ha documentado que la anomalía en el **RPRL** está relacionada con la patogénesis, la progresión y el pronóstico de las neoplasias, incluyendo el cáncer de mama (Tan y Peng, 2012). El **RPRL** es particularmente interesante porque puede ser activado por tres hormonas humanas de secuencia diversa: PRL, GH y lactógeno placentario (Brooks, 2012).

19.5 Las isoformas de PRL

En el **cuadro 19.1** y **fig. 19.6** se presentan las isoformas moleculares de la PRL en la sangre de humanos (grande-grande, grande y monómero o pequeña) y en las lactotropas de roedores (agregados o gránulos, formas intermedias, monómeros).

Cuadro 19.1 Las isoformas moleculares de la PRL (Carino, 2010).

Circulación (humanos)	Lactotropas (roedores)
BIG-BIG PM 150-170 KDa	Agregados
BIG PM 40-60 KDa	Formas intermedias
Monómero PM 23-24 KDa	Monómeros

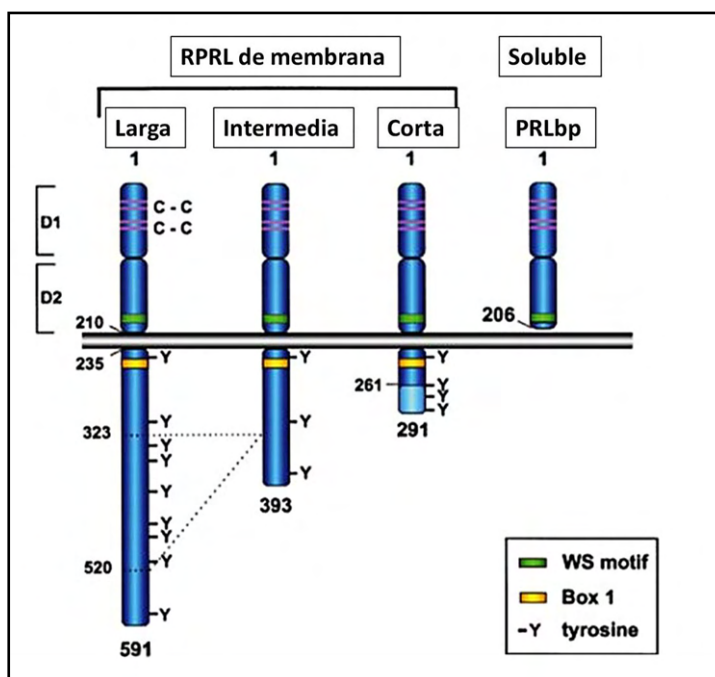


Fig. 19.6 Isoformas del receptor de PRL (Slideplayer).

Un único gen codifica el péptido que genera las isoformas moleculares de la hormona. Entre estas variantes se incluyen las modificaciones en la longitud que alteran el PM de la hormona y en las formas glicosiladas, fosforiladas o sulfatadas, cuyos PM difieren muy poco del péptido original. Dichos cambios afectan las propiedades biológicas e inmunológicas de la PRL, determinando su rol tanto en la fisiología como en ciertos cuadros clínicos (Leaños-Miranda y col., 2001 y 2006).

19.5.1 Variantes de PRL de diferente PM

A. PRL de PM menor de 23kDa.

Existen evidencias que indican modificaciones de longitud del péptido en el órgano blanco. Han sido encontrados pequeños péptidos en los folículos ováricos en crecimiento y en el líquido folicular de la rata (Nolin, 1980 y 1985). Se ha observado que la PRL puede ser escindida en un fragmento de 16 kDa y éste actuaría como inhibidor del factor de crecimiento vascular endotelial (**VEGF**) (Ferrara y col 1991; Clapp, 1987). La inhibición de la angiogénesis local podría ser una estrategia alternativa en el tratamiento del cáncer de mama (Goffin y col., 1999). Además, este fragmento tendría un rol en procesos inflamatorios, inmunológicos y cardiovasculares (Corbacho y col., 2000; Ignacak y col., 2012). Un fragmento 22 kDa pudo ser detectado en extractos de hipófisis de rata, utilizando la técnica de Western blot, con un anticuerpo producido específicamente. La producción y liberación del fragmento proteolítico en la hipófisis es específico de las ratas hembras y es sensible a la acción inhibitoria de la DA (Anthony y col., 1993).

B. PRL de PM mayor de 23kDa

Se han descrito tres isoformas de la PRL en sangre de humanos: pequeña o monomérica (**L-PRL**) (PM 23 kDa), grande (**B-PRL**) (PM 45-60 kDa) y muy grande o macroPRL (**BB-PRL**) (PM 100 kDa) (Suh y Frantz, 1974; Fang y Refetoff, 1978). En individuos normales y en pacientes con hiperprolactinemia más del 80% de la PRL es una isoforma monomérica (Glezer y col., 2006). La caracterización de BB-PRL ha revelado que en la mayoría de los casos se trata de un complejo de PRL y un autoanticuerpo IgG anti-PRL (Schiettecatte y col., 2001). En muy pocos individuos, en su mayoría mujeres, predomina la **BB-PRL** (Larrea y col., 1987; Hattori y Inagaki, 1997). Esta forma molecular tienen menor actividad biológica que el monómero (Sinha, 1995) y en general, los pacientes no presentan los síntomas asociados con la hiperprolactinemia, tales como alteraciones en el ciclo menstrual y/o galactorrea (Whittaker y col., 1981). Se ha postulado que la ausencia de síntomas es debida al elevado PM de la **BB-PRL**, que no permitiría el paso de la molécula a través de la pared capilar (Leite y col., 1992). Además, en relación con su elevado PM, se retrasa su depuración y se detecta por la mayoría de los métodos inmunológicos. Esto conduciría a diagnósticos de pseudohiperprolactinemia en estos pacientes. De aquí la importancia del rol de este complejo macromolecular en la detección y el diagnóstico diferencial de los tipos de hiperprolactinemia (Cavaco y col., 1995).

Otras formas heterogéneas menos comunes han sido descritas en pacientes con prolactinomas y están compuestas por polímeros de forma monomérica, unidos en forma covalente o no-covalente, con un PM que puede alcanzar el valor de 500 kDa (Mounier y col., 2003).

La medición de PRL es muy común en la práctica clínica. La interpretación inadecuada de los niveles de PRL sin contextualizar los resultados de laboratorio con la historia clínica conduce a diagnósticos erróneos. La macroprolactinemia, definida como hiperprolactinemia por exceso de macroprolactina (isoforma de mayor PM que la PRL pero con menor actividad biológica), es una de las principales causas de estos diagnósticos erróneos, resultando en un mal manejo del paciente cuando no se reconoce (Biagetti y col., 2021).

19.5.2 Isoformas glicosiladas

En la hipófisis de mamíferos, anfibios y aves ha sido encontrada PRL glicosilada. La glicosilación ocurre en el complejo de Golgi y la unión de los oligosacáridos se hace a través del nitrógeno del aminoácido asparagina (N-glicosilación) o del oxígeno de la serina o la treonina (O-glicosilación). El grado de glicosilación varía entre 1 y 60% en las diferentes especies y, dentro de ellas, según el estado reproductivo. La proporción de residuos de carbohidratos (ácido siálico, fucosa, manosa y galactosa) varía entre especies y depende del estado fisiológico o patológico del individuo (Sinha, 1995). La glicosilación modifica la carga de la molécula de PRL, disminuye la actividad biológica (Markoff y col., 1988; Sinha y col., 1991) y representa un impedimento estérico en la unión a su receptor. Además, disminuye la reactividad inmunogénica (Haro y col., 1990) y altera la depuración de la hormona. En humanos, se demostró por primera vez la existencia de PRL glicosilada utilizando cromatografía de afinidad (Shoupe y col., 1983). El único sitio N-glicosilado en humanos es el residuo de asparagina de la posición 31 (Lewis y col., 1984). La PRL glicosilada representa el 15% de la PRL hipofisaria y el 15-25% de la plasmática (Colombani y Scaglia, 1996). Estudios realizados en PRL recombinante humana, equivalente a la PRL hipofisaria, han demostrado la presencia de una isoforma glicosilada de 25 kDa con diferentes grados de sialilación y el análisis de los oligosacáridos determinó la existencia de formas bi- y triantenarias (Price y col., 1995).

En la **fig. 19.7** se presentan las formas glicosiladas hPRL y rPRL.

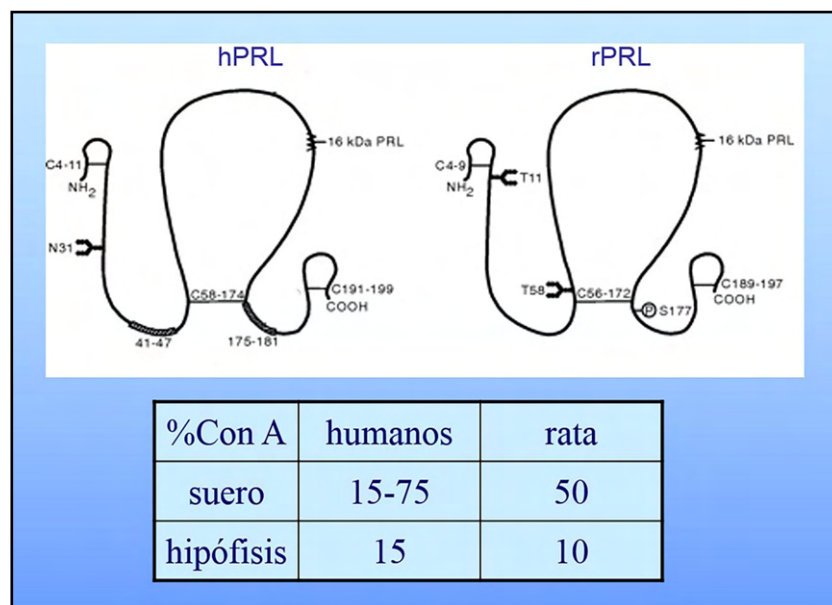


Fig. 19.7 Isoformas glicosiladas (Carino, 2010).

19.5.3 Otras variantes de la PRL

En las vesículas secretorias de las células lactotropas se pueden esterificar los grupos hidroxilo de los aminoácidos serina y treonina. Este proceso genera, antes de la exocitosis, una molécula de PRL fosforilada con una carga neta negativa. Esto ha sido demostrado *in vitro* (Sinha, 1995). En hipófisis de ratas hembras, la fosforilación de la PRL y la relación PRL fosforilada/no-fosforilada estaría regulada durante el ciclo estral (Ho y col., 1993). Además, en las células lactotropas, péptidos y proteínas pueden ser desaminados. Los residuos de asparagina y glutamina pierden amonio y se genera una mo-

lécua más ácida. Si bien ha sido hallada PRL desaminada en extractos de hipófisis, no hay evidencias que indiquen su presencia en el plasma o su secreción durante estados fisiológicos (Sinha, 1995). La sulfatación de los residuos de tirosina es otra de las modificaciones post-traduccionales que ocurren en las proteínas de organismos multicelulares. Esto se ha descrito en la PRL ovina donde la sulfatación de la tirosina se hace en el trans-Golgi, pero no se conoce su significado fisiológico (Baeuerle y Huttner, 1987; Sinha, 1995).

19.6 Actividad biológica de las variantes moleculares de PRL

Las variantes moleculares de la hormona PRL exhiben diferente grado de actividad biológica en el bioensayo de las células Nb2 (Price, 1995; Larrea y col., 1997). Esta línea celular proviene de un linfoma de rata cuyas células T poseen características similares a los linfocitos inmaduros (Noble y col., 1980). La replicación celular es específicamente estimulada por hormonas lactogénicas, como la PRL humana, ovina, bovina y de rata, en forma dosis dependiente y en un rango de concentración de 10 pg/ml a 1 ng/ml (Tanaka y col., 1980). En la rata, mediante técnicas de isoelectroenfoque, han sido caracterizadas cinco isoformas de carga de PRL hipofisaria de 24.3 kDa que presentaron puntos isoeléctricos característicos y diferente actividad mitogénica en el bioensayo de células Nb2. La biopotencia relativa (relación bioactividad/inmunorreactividad) disminuyó progresivamente con el aumento en la carga ácida de la isoforma (Briski y col., 1996).

Ha sido demostrado en humanos que las isoformas glicosiladas de la hormona PRL hipofisaria poseen mayor actividad mitogénica que las isoformas no glicosiladas (Price y col., 1995). Han sido desarrollados nuevos bioensayos homólogos para lactógenos humanos, que han permitido determinar la bioactividad de isoformas de PRL humana en pacientes con hiperprolactinemia, confirmando la importancia de la especificidad de especie en la determinación de la bioactividad de la PRL (Leaños-Miranda y col., 2006).

Las subclases de inmunoglobulina G de los autoanticuerpos anti-PRL muestran predominio de IgG4. Aunque la macroprolactinemia debida a autoanticuerpos antiprolactina (anti-PRL) no es infrecuente entre los pacientes hiperprolactinémicos, aún se desconoce la patogenia de dicha macroprolactinemia. Los datos demostraron en primer lugar que la PRL pituitaria humana está fosforilada en serina y parcialmente desfosforilada en suero y se sugiere que las isoformas ácidas pueden dar lugar a una estimulación antigénica crónica en pacientes con autoanticuerpos anti-PRL (Hattori y col., 2005).

19.7 PRL durante el desarrollo de los hámsteres machos

A. Peso hipofisario y contenido/concentración de la PRL hipofisaria

Peso hipofisario: se observaron variaciones significativas ($p < 0.01$) con un aumento entre los 15-25 días y sin variaciones entre los 30-35 días y se detectó un incremento a los 40 días de edad.

Contenido de la PRL hipofisaria (μg /hipófisis): en los hámsteres machos se modificó en forma significativa ($p < 0.01$) durante el desarrollo, aumentando entre los 15-25 días de edad, pero no se alteró a los 30 días y volvió a incrementarse entre los 35-40 días.

Concentración de la PRL hipofisaria ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína): también se modificó en forma significativa ($p < 0.01$) durante el desarrollo. A partir de los 15 días de edad, el contenido y la concentración de PRL hipofisaria y sérica se aproximaron a los valores del adulto en forma regular, con un punto de inflexión a los 30 días. A los 40 días de edad, el contenido de PRL alcanzó valores superio-

res a la adultez, mientras que la PRL sérica registró los niveles observados en los animales adultos (cuadro 19.2).

Cuadro 19.2 Peso hipofisario, contenido y concentración de la PRL hipofisaria en los hámsteres machos durante el desarrollo.

Edad (días)	Peso hipofisario (mg)	Contenido PRL ($\mu\text{g}/\text{hipófisis}$)	Concentración PRL ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)
15	1,1 \pm 0,1 a	0,20 \pm 0,03 a	3,45 \pm 0,39 a
25	2,1 \pm 0,2 b	0,94 \pm 0,09 b	8,94 \pm 0,78 c
30	2,9 \pm 0,3 c	0,93 \pm 0,06 b	6,43 \pm 0,62 b
35	3,0 \pm 0,3 c	1,24 \pm 0,13 c	8,07 \pm 0,89 c
40	3,7 \pm 0,2 d	2,10 \pm 0,17 d	11,42 \pm 1,39 d

Datos: representan la media \pm ES; n=3 (número de pools: cada pool contiene 6 hipófisis). Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey, $p < 0.05$ (Carino, 2010).

B. Niveles séricos de PRL: se determinaron los niveles séricos de PRL (ng/ml) mediante RIE homólogo, en hámsteres normales en desarrollo, en un período comprendido entre los 15-50 días de edad. Se observaron variaciones significativas ($p < 0.01$), mostrando un aumento entre los 15-25 días de edad, una disminución a los 30, un incremento entre los 35-40 días y luego no hubo variaciones hasta los 50 días (cuadro 19.3).

Cuadro 19.3 PRL sérica en hámsteres durante el desarrollo.

Edad (días)	N	PRL (ng/ml)
15	13	2,5 \pm 0,3 a
25	6	14,6 \pm 2,4 c
30	5	9,0 \pm 0,9 b
35	5	12,7 \pm 1,1 c
40	6	20,2 \pm 4,1 d
50	6	21,6 \pm 3,6 d

Datos: representan la media \pm ES; n=6/13 animales. Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey ($p < 0.01$) (Carino, 2010).

Esto indicaría que a los 40 días de edad hay un aumento en la síntesis de PRL, pero no en la liberación. Todos los datos séricos obtenidos estuvieron en concordancia con los publicados por Vomachka y Greenwald (1979).

En el humano, el desarrollo del feto está expuesto a la actividad de la PRL de la placenta, así como de la pituitaria fetal en desarrollo. Las distintas isoformas del receptor de PRL, que tienen diferentes dominios citoplasmáticos generados por corte y empalme alternativo, se expresan a medida que avanza el desarrollo a diferentes niveles en diferentes órganos. Los receptores largos son capaces de me-

diar en la transducción de todas las señales examinadas, en contraste con las isoformas cortas, cuyos dominios citoplasmáticos truncados son capaces de mediar en un repertorio de señales mucho más pequeño y pueden actuar como negativos dominantes. Nuestros estudios demuestran que, aunque estas formas comparten mecanismos de internalización, la forma larga se internaliza más rápidamente, lo que resulta en una regulación a la baja más rápida de esta forma. Se examinaron las vías de señalización a través de las cuales la PRL que se une al receptor largo regula la transcripción de la ciclina D1. Los estudios revelan la importancia de la vía **JAK/STAT** y la complejidad de la señalización de PRL este promotor (Schuler y col., 2001).

19.8 PRL en hámsteres adultos machos en fotoperíodo normal y fotoinhibición.

A. Peso hipofisario, contenido/concentración de la PRL hipofisaria.

No se registraron diferencias significativas en los pesos de las hipófisis de hámsteres mantenidos en el fotoperíodo normal y la fotoinhibición durante 8, 14, 15, 16, 22 y 28 semanas. El contenido y la concentración de la PRL hipofisaria de hámsteres adultos en el *fotoperíodo normal* (FN) y la *fotoinhibición* (FI) durante 8, 14, 15, 16, 22 y 28 semanas (FI8s, FI14s, FI15s, FI16s, FI22s y FI28s) se modificaron en forma significativa ($p < 0.01$) entre los grupos FN y FI. Se detectó una variación significativa ($p < 0.01$) entre los grupos FI, con un descenso de ambos parámetros entre las 8 y 16 semanas de fotoinhibición, alcanzando el valor mínimo a las 16 semanas. No se observaron diferencias significativas entre las semanas 14-15. Ambos parámetros se recuperaron en las semanas siguientes a la fotoinhibición (FI22s y FI28s) (cuadro 19.4).

Cuadro 19.4 Peso hipofisario, contenido y concentración de la PRL hipofisaria en los hámsters adultos machos en el fotoperíodo normal (FN) y en la fotoinhibición (FI).

Fotoperíodo	Peso hipofisario (mg)	Contenido PRL ($\mu\text{g}/\text{hipófisis}$)	Concentración PRL ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)
FN	3,6 \pm 0,3 a	1,35 \pm 0,15 a	7,15 \pm 0,92 a
FI 8s	3,7 \pm 0,4 a	0,74 \pm 0,08 b	3,82 \pm 0,42 b
FI 14s	3,8 \pm 0,8 a	0,17 \pm 0,01 e	0,87 \pm 0,91 e
FI 15s	3,5 \pm 0,8 a	0,15 \pm 0,02 e	0,60 \pm 0,53 e
FI 16s	3,7 \pm 0,4 a	0,08 \pm 0,01 d	0,38 \pm 0,44 d
FI 22s	3,7 \pm 0,4 a	0,49 \pm 0,09 d	3,16 \pm 0,12 c
FI 28s	3,0 \pm 0,5 a	0,68 \pm 0,09 c	3,27 \pm 0,29 c

FN: en fotoperíodo normal; FI: en fotoinhibición durante 8, 14, 15, 16, 22 y 28 semanas (FI 8 s, FI 14 s, FI 15 s, FI 16 s, FI 22 s y FI 28 s). Los datos representan la media \pm ES; n= 6 (número de pools: cada pool contiene 6 hipófisis). Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey, $p < 0.05$ (Carino, 2010).

B. PRL sérica: se observó un descenso significativo ($p < 0.01$) de la PRL sérica en los grupos FI con respecto al grupo FN. Además, se observaron variaciones significativas ($p < 0.01$) entre los diferentes grupos FI. Los niveles séricos de PRL disminuyeron en las primeras semanas de la fotoinhibición (FI8s

y FI16s), alcanzando un nivel mínimo a las 16 semanas y hubo una recuperación parcial en las semanas siguientes (FI22s y FI28s) (**cuadro 19.5**).

Cuadro 19.5 PRL sérica en hámsteres adultos en fotoperíodo normal y en fotoinhibición.

Fotoperíodo	N	PRL (ng/ml)
FN	6	20,1 ± 1,2 a
FI 8 s	6	4,9 ± 0,4 b
FI 16 s	6	2,1 ± 0,3 c
FI 22 s	6	3,6 ± 0,2 d
FI 28 s	6	14,6 ± 1,3 e

FN: adultos en fotoperíodo normal; **FI:** adultos en fotoinhibición durante 8, 16, 22 y 28 semanas (FI 8 s, FI 16 s, FI 22 s y FI 28 s), n=6. Los datos representan la media ± ES. Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey (p < 0.01) (Carino, 2010).

Los valores hallados de la PRL hipofisaria y sérica de hámsteres adultos en fotoinhibición (**FI**) difieren respecto a los datos registrados en los hámsteres inmaduros. Estos resultados no coinciden con los parámetros detectados en los testículos de hámsteres inmaduros y fotoinhibidos (Frungeri y col., 1999). Sin embargo, el contenido y la concentración de la PRL hallados en la hipófisis así como la PRL sérica durante el desarrollo, presentaron valores superiores a los observados durante la **FI**.

19.9 PRL en ratones adultos hembras de cepa salvaje (WT) y transgénicos (TG)

En el modelo de ratones transgénicos (TG) que sobreexpresan hCG, se observó un aumento en el contenido y la concentración de la PRL. La hiperprolactinemia fue el resultado de una mayor síntesis y liberación de la PRL, debido al aumento de las células lactotropas a los 6 meses y a la presencia de prolactinomas a los 12 meses, los cuales serían inducidos por la exposición a elevados niveles de esteroides gonadales, presentes en este modelo experimental (Rulli y col. (2002). En ratones TG de 6 meses de edad se detectó un aumento de las formas oligoméricas. Este valor se incrementó a los 12 meses de edad, con un ascenso significativo del porcentaje relativo de las isoformas poliméricas. En ambas edades, el incremento relativo de las isoformas oligoméricas, poliméricas o ambas se hizo a expensas de las isoformas monoméricas que disminuyeron hasta un 50% en ratones TG de 12 meses de edad. Además, en el suero de estos ratones los cambios en los porcentajes de PRL de las isoformas oligoméricas y monoméricas fueron similares a los hallados en la hipófisis. Sin embargo, no se observaron variaciones en el porcentaje de las isoformas poliméricas séricas entre los grupos mencionados, lo cual indicaría que el aumento en la PRL sérica observado en ratones TG de 6 y 12 meses de edad, presentó una contribución mayor de oligómeros de PRL.

Peso hipofisario, contenido/concentración de la PRL hipofisaria: en los ratones hembras adultos TG de 6 y 12 m se halló un aumento significativo ($p < 0.01$) en contenido y concentración de PRL hipofisaria respecto a los ratones WT (**cuadro 19.6**).

Cuadro 19.6 Peso hipofisario, contenido y concentración de la PRL hipofisaria en los ratones adultos hembras de la cepa salvaje (WT) y los transgénicos (TG).

Grupo	Peso hipofisario (mg)	PRL ($\mu\text{g}/\text{hipósis}$)	PRL ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)
WT 6m	$3,0 \pm 0,3$ a	$1,5 \pm 0,2$ a	$12,3 \pm 1,3$ a
TG 6m	$15,0 \pm 0,5$ b	$15,1 \pm 1,6$ b	$21,4 \pm 2,1$ b
WT 12m	$3,0 \pm 0,1$ a	$1,81 \pm 0,3$ a	$12,5 \pm 1,5$ a
TG 12m	$130,0 \pm 37$ c	$169,0 \pm 40$ c	$28,1 \pm 2,9$ c

WT 6 m y WT 12 m: cepa salvaje de 6 y 12 meses de edad, **TG 6 m y TG 12 m:** transgénicos de 6 y 12 meses de edad. Los datos representan la media \pm ES, $n=3-5$ determinaciones. Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey, $p < 0.05$ (Carino, 2010).

Los resultados indicaron que en el modelo de hiperprolactinemia de ratones TG existiría una alteración en los mecanismos de liberación de la hormona en las células lactotropas que determinarían un mayor porcentaje de isoformas oligoméricas de la PRL séricas (**cuadro 21.7**).

Cuadro 19.7 La PRL sérica en los ratones hembras adultos de cepa salvaje y transgénicos.

Grupo	PRL sérica ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
WT 6 m	$0,04 \pm 0,01$ a
TG 6 m	$3,20 \pm 0,20$ b
WT 12 m	$0,10 \pm 0,02$ a
TG 12m	$82,0 \pm 39,10$ b

WT 6 m y WT 12 m: ratones hembras de la cepa salvaje de 6-12 meses. **TG 6 m y TG 12 m:** ratones hembras transgénicos de 6-12 meses. Los datos representan la media \pm ES, $n=3-5$ determinaciones. Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey ($p < 0.01$) (Carino, 2010).

Los ratones TG de 6 y 12 meses de edad presentaron un aumento significativo ($p < 0.01$) en los niveles séricos, contenido y concentración hipofisarios de PRL, en relación a sus respectivos WT. Además, las isoformas moleculares de la PRL halladas en el suero de ratones de la cepa salvaje y en sueros humanos tuvieron algunas similitudes. Los porcentajes de las isoformas poliméricas, oligoméricas y monoméricas coincidieron.

Se comunicaron porcentajes de isoformas oligoméricas similares en muestras séricas de mujeres con hiperprolactinemia, en concordancia con nuestros resultados séricos de ratones transgénicos (Colombani y Scaglia, 1996).

19.10 Isoformas de PRL de durante el desarrollo de hámsteres machos

Para analizar las isoformas de la PRL de diferente PM cada cromatograma de exclusión molecular se dividió en intervalos correspondientes a los PM 100-130, 34-100 y 12-34 kDa. Se realizaron tres cromatografías ($n=3$) de cada grupo y se calculó el porcentaje de PRL en cada intervalo. Entre los 15-40 días

de edad se observó la presencia de dos picos principales de diferente área. El menor correspondió a un polímero de PRL de PM 100-130 kDa y el mayor a la forma monomérica de PRL de PM 12-34 kDa, con 4-5 picos menores. Se observó un alto porcentaje de las isoformas correspondientes al monómero o de PRL hipofisaria (PM de 12-34 kDa) a todas las edades estudiadas.

No se detectaron diferencias significativas en los porcentajes de las diferentes isoformas de la PRL durante el desarrollo (**fig. 19.8**).

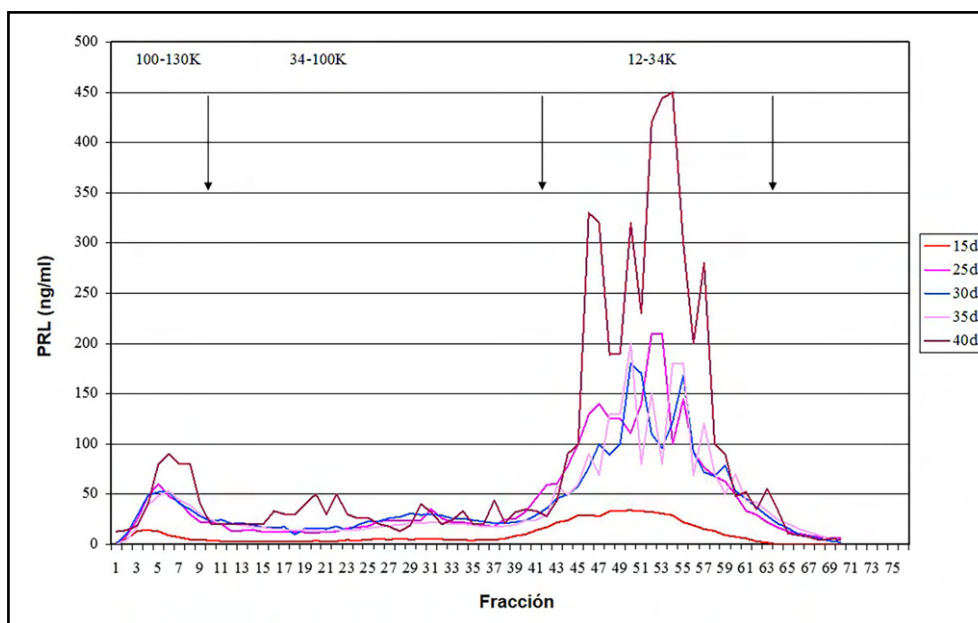


Fig. 19.8 Las isoformas de PRL hipofisaria de diferente PM en hámsteres normales durante el desarrollo (15, 25, 30, 35 y 40 días) (Sephadex G-100) (Carino, 2010).

19.11 Isoformas de PRL en hámsteres durante fotoperíodo normal y fotoinhibición

Se estudiaron las isoformas de PRL hipofisaria de diferente PM en hámsteres adultos en el fotoperíodo normal (FN) y en la fotoinhibición (FI) durante las semanas 8, 16, 22 y 28 (FI8s, FI16s, FI22s y FI28s). Se observaron en todos los cromatogramas la presencia de dos picos principales de diferente área. El menor correspondió a un polímero de PRL de PM 100-130 kDa y el mayor a la forma monomérica de PRL de PM 12-34 kDa. Este último a su vez estuvo constituido por 4-5 picos menores. No hubo diferencias significativas en los porcentajes relativos de las isoformas de la PRL hipofisaria de distinto PM, provenientes de animales sometidos al fotoperíodo normal y a la fotoinhibición (**fig. 19.9**).

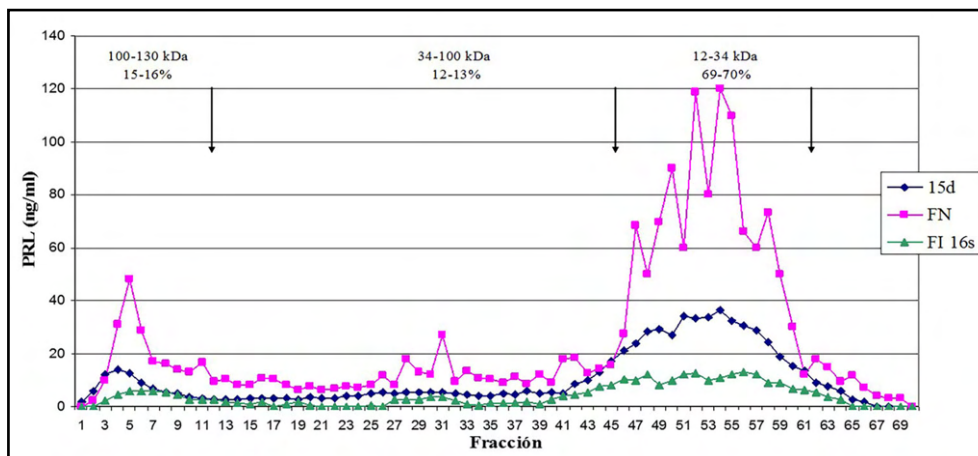


Fig. 19.9 Las isoformas de PRL hipofisaria de diferente PM en los hámsteres adultos machos en el fotoperíodo normal (FN) y en la fotoinhibición (FI) (Sephadex G-100). (Carino, 2010).

Torres y col. (1984), utilizando el método de extracción con urea, observaron mediante cromatografía de exclusión molecular, la presencia de la forma monomérica de la PRL en hipófisis de rata. Sin embargo, mediante la utilización de PBS, en los hámsteres adultos sometidos a FN se pudo determinar la presencia de tres isoformas de PRL hipofisaria: polímeros (PM > 100 kDa), oligómeros (12-34kDa) y monómeros (12-34 kDa). Estos últimos, constituidos por 4-5 isoformas fueron similares a las isoformas monoméricas de las PRL extraídas con PBS, descritas por Briski y col. (1996) en la hipófisis de rata. Por lo tanto, en la hipófisis no se modifica el mecanismo de almacenamiento de la PRL en las tres situaciones experimentales: hámsteres durante el desarrollo, adultos en el fotoperíodo normal y en la fotoinhibición. No se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de las isoformas en cada intervalo, ya sea en estados de normo o hipoprolactinemia. Así, el polímero presente en los gránulos se solubilizó en PBS en la misma proporción en I-FN, FN y FI16s. En estos últimos, se detectaron niveles bajos de la PRL hipofisaria y una disminución de la densidad de las células lactotropas inmunomarcadas. Estos resultados coinciden con los publicados por Cónsole y col. (2002), donde se observó la presencia de gránulos de menor tamaño en el estudio ultraestructural. Dichos valores indicarían que las isoformas de PM de la PRL almacenadas en los gránulos y la PRL que se secreta en forma constitutiva en la hipófisis de los hámsteres adultos o inmaduros, sometidos al fotoperíodo normal, serían las mismas que las existentes en los animales adultos en la fotoinhibición.

19.12 Isoformas de PRL en ratones hembras de cepa salvaje y transgénicos

Los resultados se presentan en la **fig. 19.10**.

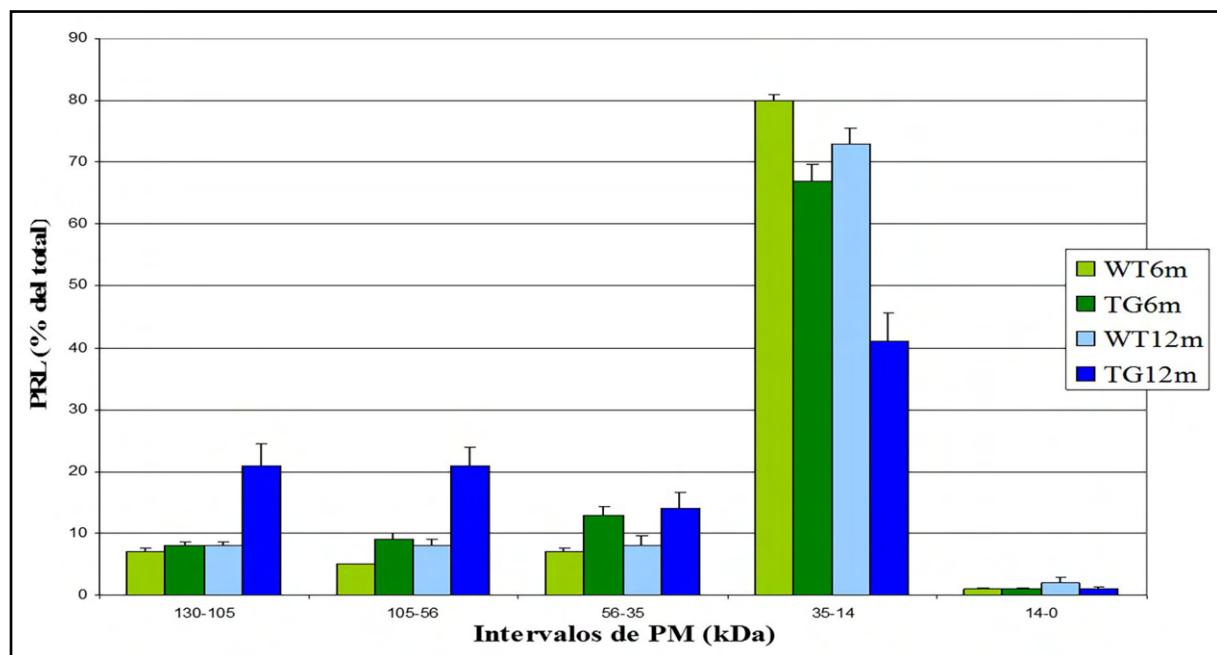


Fig. 19.10 Las isoformas de PM en los ratones hembras de cepa salvaje y los transgénicos.

WT: cepa salvaje (6-12 meses), **TG:** transgénicos (6-12 meses). Datos: \pm ES, n=3-5 cromatografías. Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey ($p < 0.05$) (Carino, 2010).

No se detectaron cambios significativos en el porcentaje de las isoformas de PRL hipofisaria en los ratones TG6m respecto a WT6m, en los intervalos 105-130 y 0-14 kDa. Hubo un incremento significativo ($p < 0.05$) en TG6m respecto a WT6m en el intervalo 56-105 y 35-56 kDa y disminución significativa ($p < 0.01$) en el intervalo 14-35 kDa. En TG12 m se registró un aumento significativo respecto a los WT12 m, en los intervalos 56-105 y 35-56 kDa, pero hubo una disminución significativa ($p < 0.01$) en el intervalo 14-35 kDa.

19.13 Isoformas glicosiladas de PRL durante el desarrollo de los hámsteres machos

Se utilizó una cromatografía de afinidad en columna de Concanavalina A (Con A) que permitió estudiar las isoformas glicosiladas/no glicosiladas de PRL, a través de la interacción de ciertas estructuras de carbohidratos con la lectina Con A.

Se determinó la PRL capaz de unirse a Con A en citosoles de hipófisis de los hámsteres de 15, 25, 30, 35 y 40 días de edad. La fracción de PRL que no se unió a la lectina formó un pico principal y la PRL unida a la Con A mostró un pico menor (**cuadro 19.8, fig. 19.11**).

Cuadro 19.8 Interacción entre la PRL hipofisaria y Con A durante el desarrollo.

Fracción	PRL (% del total en cada edad)				
	15d	25d	30d	35d	40d
No Unida (1-10)	89,0 ± 3,5 a	87,0 ± 3,9 a	79,3 ± 2,2 b	88,3 ± 4,9 a	92,8 ± 7,0 a
Unida (11-20)	9,4 ± 0,8 c	11,4 ± 2,5 cd	20,4 ± 2,5 d	10,2 ± 1,9 c	7,6 ± 5,7 c

Datos: ± ES; n=3 pools (cada pool contiene 6-10 hipófisis). Distintas letras indican diferencias significativas. Test de Tuckey (p < 0.05) (Carino, 2010).

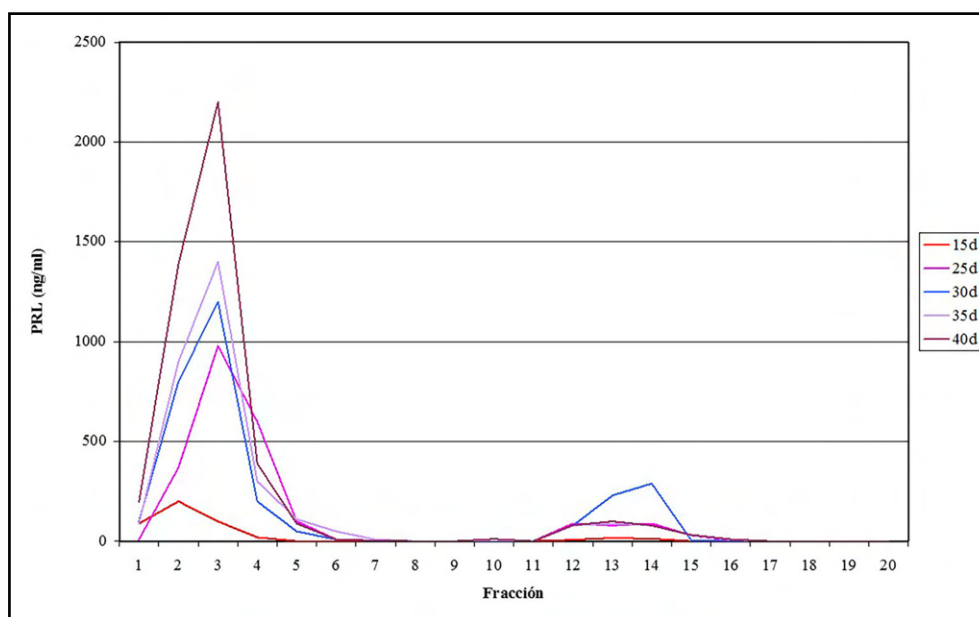


Fig. 19.11 Fraccionamiento de la PRL por cromatografía de Con A en hipófisis de los hámsteres normales durante el desarrollo (15, 25, 30, 35 y 40 días) (Carino, 2010).

Se detectaron diferencias significativas (p < 0.05) en los porcentajes relativos de las isoformas que interaccionaron con la Con A de 30 días de edad, observándose una disminución en la proporción de isoformas no unidas a Con A, acompañado de un concomitante aumento en las estructuras con afinidad por la lectina. Los resultados obtenidos en los hámsteres durante el desarrollo mostraron que una fracción de la PRL hipofisaria interaccionó con la Con A y que el aumento registrado a los 30 días coincidió con un punto de inflexión en los niveles de la PRL hipofisaria y sérica. Este hecho marcaría que a los 30 días del desarrollo de los hámsteres normales ocurre un cambio en la glicosilación de la PRL hipofisaria.

19.14 Isoformas glicosiladas de PRL en hámsteres en FN y FI

Se analizó la interacción de la PRL con la **Con A** en hámsteres adultos en FN y FI. Se observó en todos los grupos la presencia de un pico principal que corresponde a la fracción de PRL no unida a lectina y uno menor que corresponde a la PRL unida. No se hallaron diferencias significativas entre FN y FI (cuadro 19.9, fig. 19.12).

Cuadro 19.9 Interacción entre PRL hipofisaria y Con A durante FN y FI.

Fracción	PRL (% del total)				
	FN	FI 8s	FI 16s	FI 22s	FI 28s
No Unida (1-10)	88,0 ± 8,8 a	89,0 ± 6,7 a	88,3 ± 8,2 a	90,2 ± 8,9 a	89,8 ± 9,0 a
Unida (11-20)	11,4 ± 1,8 b	10,4 ± 1,3 b	11,4 ± 1,5 b	9,2 ± 0,8 b	9,6 ± 0,7 b

FN: hámsteres adultos en fotoperíodo normal, FI: adultos en fotoinhibición durante las semanas 8, 16, 22 y 28 (FI8s, FI16s, FI22s y FI28s). Datos: ± ES; n=3 pools (cada pool contiene 6 hipófisis) (Carino, 2010).

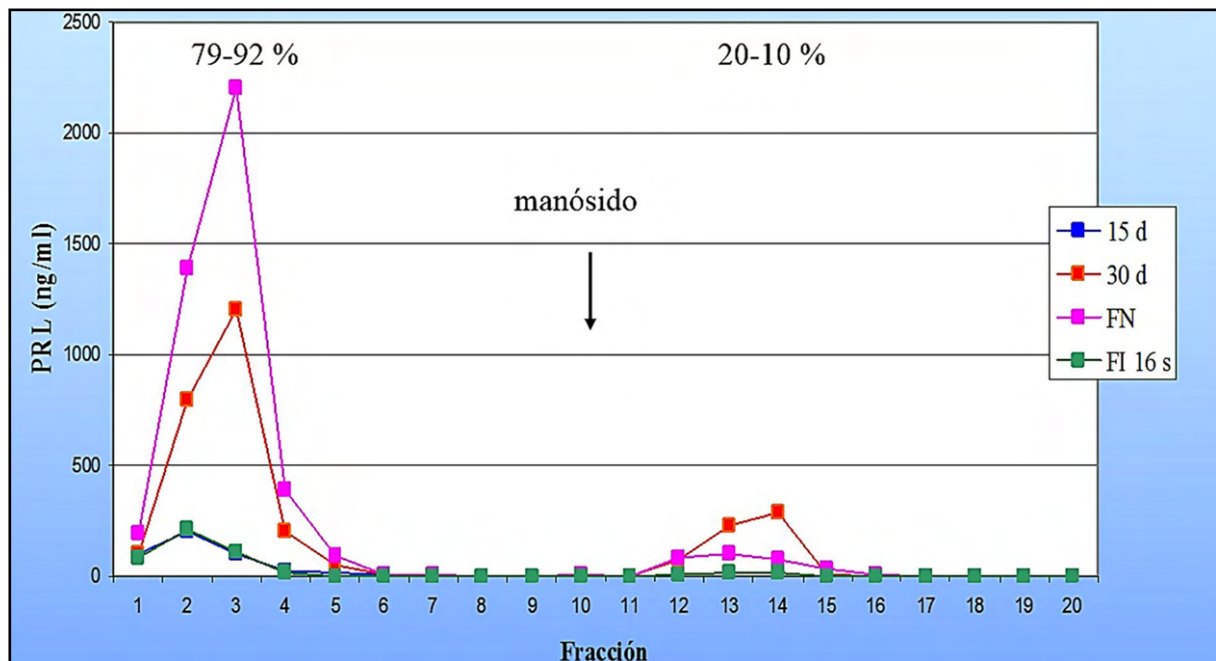


Fig. 19.12 Fraccionamiento de la PRL por cromatografía de Con A en hipófisis de los hámsteres en el fotoperíodo normal (FN) y en la fotoinhibición (FI) (Carino, 2010).

19.15 Isoformas glicosiladas de PRL en ratones de la cepa salvaje y transgénicos

No se hallaron diferencias significativas cuando se comparó la interacción de la PRL-Con A en los grupos WT y TG de 6 y 12 meses de edad (cuadro 19.10, fig. 19.13).

Cuadro 19.10 Fraccionamiento de la PRL por cromatografía con Con A en hipófisis de los ratones hembras de la cepa salvaje y los transgénicos de 6 y 12 meses de edad.

Fracción	PRL (% del total)			
	WT6m	WT12m	TG6m	TG12m
No Unida (1-10)	96,0 ± 8,8 a	97,0 ± 6,7 a	98,3 ± 8,2 a	97,2 ± 8,9 a
Unida (11-20)	2,9 ± 0,8 b	2,4 ± 1,3 b	2,2 ± 1,5 b	1,2 ± 1,9 b

La fracción de PRL unida a la lectina fue similar en todos los grupos estudiados. Además, los azúcares unidos a la PRL hipofisaria que interaccionaron con la lectina no se modificaron en la hiperplasia lactotropa o en el prolactinoma.

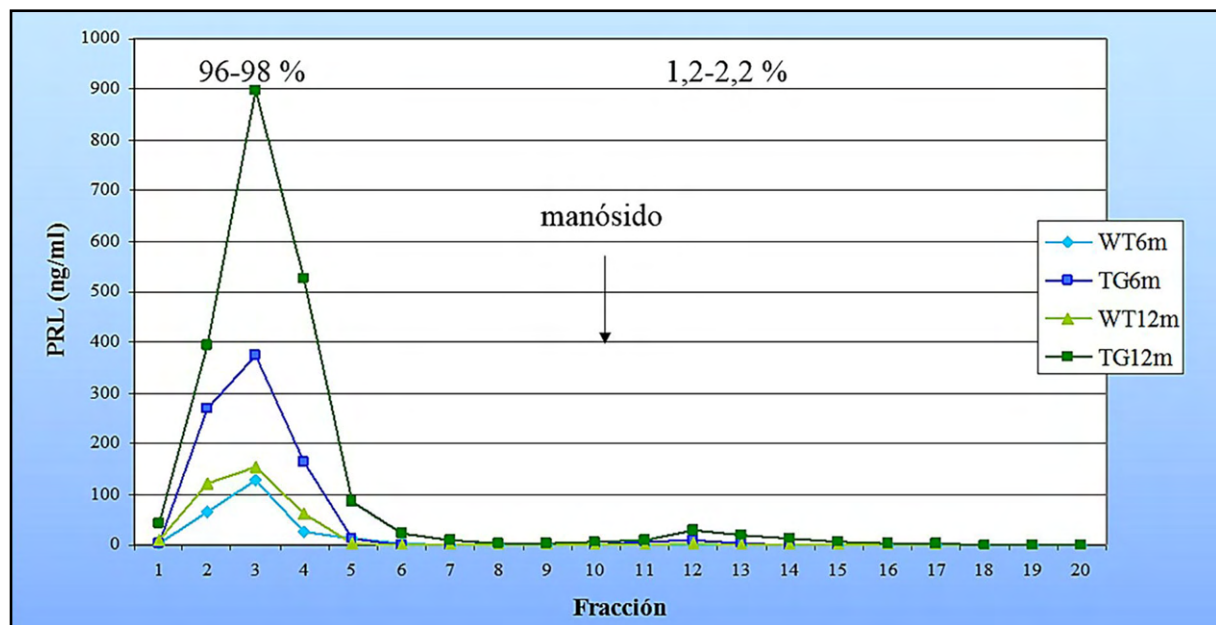


Fig. 19.13 Fraccionamiento de la PRL por cromatografía de Con A en hipófisis de los ratones de la cepa salvaje (WT) y los transgénicos (TG) (Carino, 2010).

Los resultados obtenidos en hámsteres coinciden con lo publicado por Champier y col. (1992) que hallaron menos de 10% de PRL hipofisaria unido a la Con A en hipófisis de rata.

19.16 Isoformas de carga de la PRL en hámsteres con fotoperíodo normal y fotoinhibición

Isoelectroenfoque de isoformas de la PRL hipofisaria: las isoformas de carga de la PRL en el grupo inmaduro-fotoperíodo normal (I-FN) fueron detectadas en el intervalo de pH 3.51-8.50, mientras que en el FN y en FI16s el intervalo resultó entre 4.01-7.00.

En I-FN el 88% del total de las isoformas recuperadas se halló en intervalo de pH 5.51-7.00 ($p < 0.001$). En FN se detectó un 92% en el intervalo 4.01-5.50 ($p < 0.001$), mientras que en FI16s el 80% de las isoformas se hallaron en el intervalo 5.01-5.50 ($p < 0.001$).

En todos los cromatogramas realizados en los hámsteres en FN se observaron tres isoformas cuyos puntos isoeléctricos (pI) fueron más ácidos que los hallados en I-FN. En FI16s se observó una isoforma de carga con pI comprendido entre los dos grupos anteriores (fig. 19.14, cuadro 19.11).

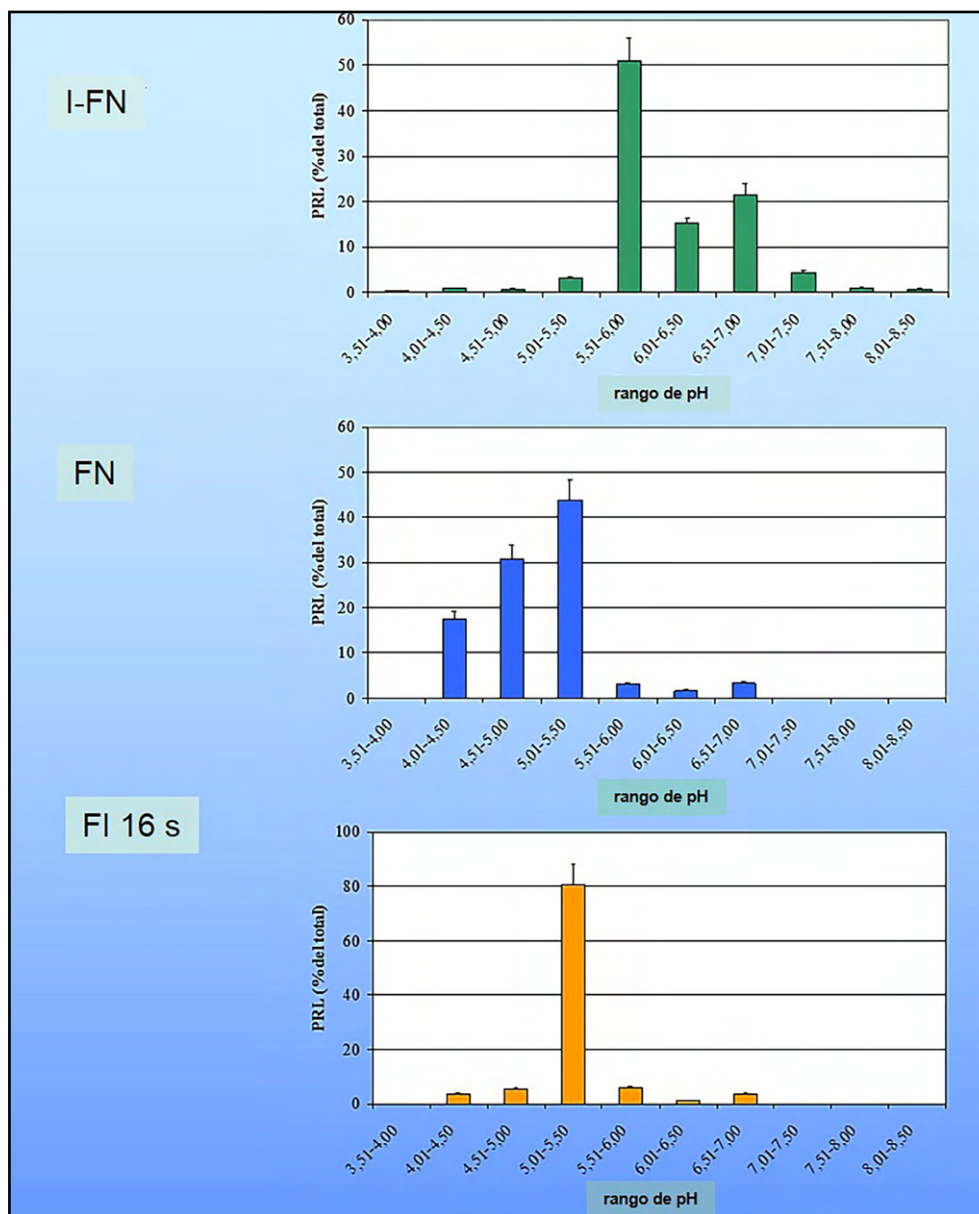


Fig. 19.14 Perfil de distribución de las isoformas de carga de la PRL hipofisaria en los hámsteres inmaduros de 30 días (I-FN), adultos en FN y FI16s (Carino, 2010).

Cuadro 19.11 Análisis de diferentes isoformas de carga de la PRL hipofisaria en I-FN, FN y FI16s.

Fotoperíodo	Isoformas de carga	
	% de PRL	pI
I-FN	25,6 ± 1,9	5,92 ± 0,13
	22,5 ± 2,2	6,64 ± 0,25
FN	21,2 ± 1,8	5,16 ± 0,31
	17,4 ± 0,6	4,61 ± 0,16
	6,9 ± 1,3	4,34 ± 0,21
FI16s	45,3 ± 1,0	5,44 ± 0,41

Las isoformas de carga de PRL fueron más ácidas que las descritas en la rata, cuyos pIs se ubicaron en el rango de 5.15-5.34 (Briski y col., 1996). Además, en FI16 s, se determinó la presencia de una isoforma principal de pI comprendido en el intervalo 5.01-5.50. Estos datos indican que las isoformas hipofisarias de la PRL en animales adultos sometidos a FN son más ácidas que las existentes en animales FI y esto podría deberse a la incorporación de moléculas de hidratos de carbono o grupos funcionales ácidos, hecho que ocurriría en menor proporción en la molécula de PRL durante la fotoinhibición. Si se comparan las isoformas de carga de los hámsteres inmaduros y adultos en FN, se observa que las primeras son menos ácidas. Por lo tanto, habría un aumento de la acidez de la molécula de PRL asociado a la maduración del hámster.

Las características mencionadas permitirían presumir la presencia de carbohidratos en la molécula de PRL, de un modo similar a los descriptos en las isoformas de carga de FSH en ratas inmaduras (Rulli y col., 1999; Campo y col., 2007).

La PRL induce la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX2) y la prostaglandina en las células de Leydig del hámster a través de la IL-1 β y la activación de P38-MAPK y JAK2. La heterogeneidad de la PRL detectada en hámsteres sería responsable de las variaciones fotoperiódicas de la expresión de COX2 en las células de Leydig (Matzkin y col., 2012).

19.17 Isoformas de carga de PRL en ratones de la cepa salvaje y los transgénicos

En los ratones WT y TG de 6-12 meses de edad las isoformas de carga de la PRL fueron halladas en el intervalo de pH= 2.51-9.50.

En WT6 m el 27% y el 14% de las isoformas de PRL recuperadas se hallaron en los intervalos de pH 4.51-5.00 y 7.51-8.00 respectivamente ($p < 0.001$).

En TG6m el 65% y el 9% de las isoformas se aislaron en pH 4.01-5.5 y 7.51-8.00 ($p < 0.001$).

En WT12m el 28.8% de las isoformas de PRL recuperadas se hallaron en pH 4.51-5.00 ($p < 0.001$).

En TG12m se halló el 79% en pH 3.51-5.50 ($p < 0.001$). Además, no se observaron diferencias significativas en el pH de las isoformas predominantes en cada grupo (figs. 19.15-19.16).

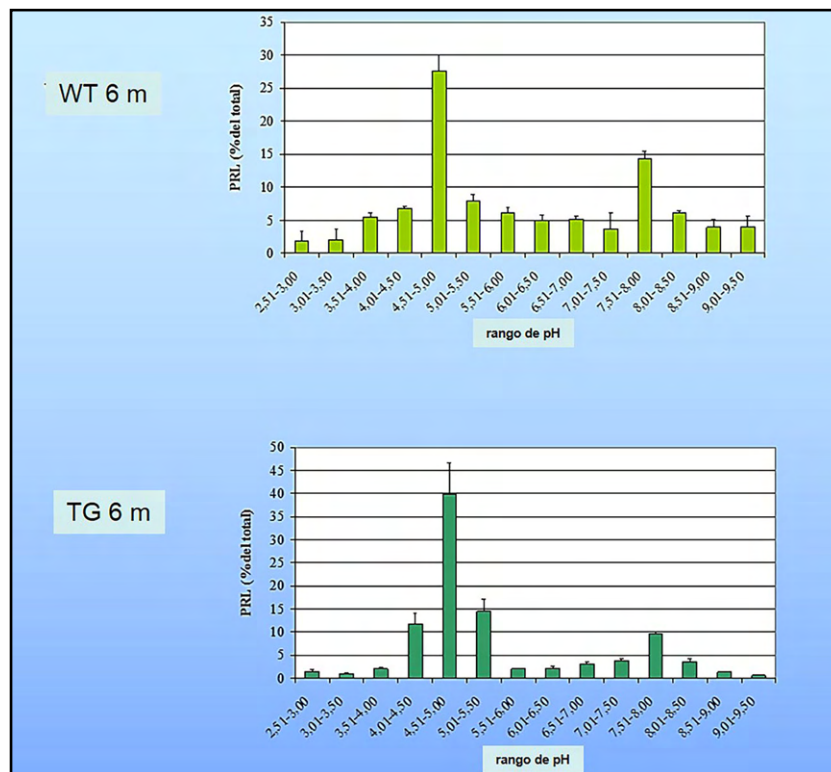


Fig. 19.15 Perfiles de distribución de las isoformas de carga de la PRL hipofisaria en los ratones de la cepa salvaje (WT) y los transgénicos (TG) de 6 meses (Carino, 2010).

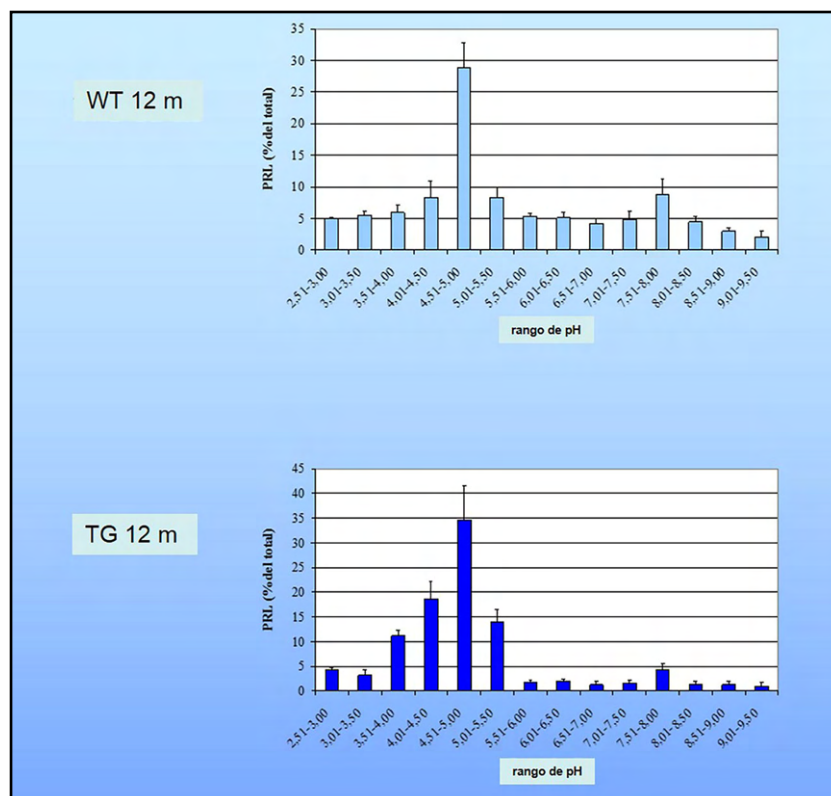


Fig. 19.16 Perfiles de distribución de las isoformas de carga de la PRL hipofisaria en los ratones de la cepa salvaje (WT) y los transgénicos (TG) de 12 meses (Carino, 2010).

Los resultados obtenidos en ratones mostraron la presencia de varias isoformas de carga de la PRL cuyos pIs estuvieron comprendidos en el rango de pH 2.50-9.50. Este intervalo fue más amplio que el observado en los hámsteres adultos en FN, donde las isoformas de PRL se hallaron en el rango de pH 4.01-5.50. En los ratones WT de 6 y 12 m se detectó un mayor porcentaje de las isoformas de carga de pIs más básicos.

En los ratones TG de 6 y 12 m se observó, además de la hiperprolactinemia, un aumento significativo en el porcentaje de las isoformas de PRL más ácidas, a expensas de una disminución de las más básicas. El aumento de las isoformas ácidas ha sido descrito en estudios realizados en sueros de mujeres con hiperprolactinemia (Guido y col., 1997).

19.18 Actividad biológica y biopotencia relativa de PRL de hámsteres inmaduros y adultos en fotoperíodo normal y fotoinhibición

Se analizó la bioactividad de la PRL a través de un bioensayo en cultivo de células Nb2, donde se determinó el índice de proliferación mediante la incorporación de timidina-³H. En cada grupo estudiado se realizaron tres determinaciones (n=3) de la PRL bioactiva (**B-PRL**) mediante bioensayo, tres de la PRL inmunorreactiva (**I-PRL**) mediante RIE y se analizó la biopotencia relativa (**B/I**) mediante la relación **B-PRL/I-PRL**. Se determinó la biopotencia relativa de la PRL en suero y en los citosoles hipofisarios de los animales inmaduros de 30 días (**I-FN**), adultos en fotoperíodo normal (**FN**) y adultos en fotoinhibición durante 16 semanas (**FI16s**). Los valores hallados en **I-FN** mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$) con respecto a FN y **FI16s**, en suero e hipófisis (**cuadro 19.12**) (Carino, 2010).

Cuadro 19.12 Biopotencia relativa de PRL sérica e hipofisaria en hámsteres inmaduros y adultos.

	I-FN	FN	FI 16s	FN carga de isoformas (pI)		
				4,34 ± 0,01	4,61 ± 0,06	5,16 ± 0,01
B-PRL (ng/ml)	432 ± 33 a	380 ± 86 a	30,7 ± 4,5 b	87 ± 9,5 a	166 ± 20 b	189 ± 21 b
I-PRL (ng/ml)	5.660 ± 420 a	7.300 ± 285 b	480 ± 33,2 c	426 ± 31 a	481 ± 33 b	958 ± 43 c
B/I	0,08 ± 0,007 a	0,05 ± 0,004 b	0,06 ± 0,006 b	0,2 ± 0,008 a	0,19 ± 0,007 ^a	0,19 ± 0,008 a

B-PRL: PRL bioactiva, I-PRL: PRL inmunorreactiva, B/I: biopotencia relativa. Test Tuckey ($p < 0.01$).

En todos los ensayos se obtuvieron valores muy bajos de bioactividad de la PRL y, en consecuencia, la biopotencia relativa fue menor que la unidad. Estos resultados son menores que los hallados por otros autores. Briski y col. (1996) observaron valores de biopotencia relativa de 3.0 y 1.9 en la PRL hipofisaria y sérica de rata, mientras que en las isoformas fue del orden de 0.7-1.8. Esta discrepancia podría evidenciar la importancia de la especificidad de especie en el bioensayo de células Nb2 cuando se utilizaron ligandos de otra especie, así como la presencia de receptores de PRL truncados que difieren de las isoformas naturales encontradas en la rata (Leaños-Miranda y col., 2006).

Además, las isoformas de carga de la PRL en las hipófisis de los hámsteres adultos en FN son ácidas, mientras que en los hámsteres inmaduros son más básicas. Por lo tanto, la maduración sexual en el hámster se asocia con las isoformas ácidas de la PRL, con un valor intermedio entre adultos e inmaduros sometidos a la fotoinhibición de 16 semanas. El modelo de la fotoinhibición representa un estadio intermedio entre el hámster adulto y el inmaduro. En agregado, una fracción de la PRL hipofisaria permanece unida a una glicoproteína durante la electroforesis, en condiciones desnaturizantes y reductoras.

El aumento de células lactotropas determina una mayor síntesis y liberación de la PRL en los ratones transgénicos que presentaron una PRL hipofisaria monomérica glicosilada. Dichas isoformas oligoméricas de PRL aumentaron en la hipófisis de los ratones transgénicos en el estadio de hiperplasia. Las isoformas oligoméricas y poliméricas de PRL se incrementaron en los procesos de formación de los prolactinomas en los ratones transgénicos, mientras disminuyeron las isoformas monoméricas séricas. Hay un aumento de las isoformas de carga de PRL más ácidas durante el proceso de transformación de la hipófisis normal a prolactinoma. Los ratones transgénicos de 6 meses evidenciaron una hiperplasia lactotropa que a los 12 meses se transformó en un prolactinoma cromófilo.

Concluyendo, el contenido hipofisario de la PRL en los hámsteres adultos varía en función del fotoperíodo y de la síntesis-liberación de la PRL, disminuyendo durante la fotoinhibición. Las mismas isoformas de PM de la PRL en los hámsteres inmaduros y adultos se sintetizan en el FN o en **FI16s**, mientras el perfil de las isoformas de carga de PRL y FSH se registra en el mismo intervalo de pH, lo que indica igual comportamiento en un campo eléctrico.

Referencias

- Abramicheva PA et al. Isoformas del receptor de prolactina como base de la acción específica de tejido de la prolactina en la norma y la patología. *Bioquímica (Mosc)* 84 (4): 329-345, 2019.
- Anthony PK et al. The 22K variant of rat prolactin: evidence for identity to prolactin, storage in secretory granules, and regulated release. *Endocrinology* 1993; 132(2):806-814.
- Baeuerle PA, Huttner WB. Tyrosine sulfation is a trans-Golgi-specific protein modification. *J Cell Biol* 1987; 105(6 Pt1):2655-64.
- Ben-Jonathan N, Hnasko R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocr Rev* 2001; 22(6):724-763.
- Biagetti B et al. Macroprolactina: del laboratorio a la práctica clínica. *Endocrinol Diabetes Nutr S2530-0164* (21) 00082-3, 2021.
- Billis WM, Delidow BC, White BA. Posttranscriptional regulation of prolactin (PRL) gene expression in PRL-deficient pituitary tumor cells. *Mol Endocrinol* 1992; 6(8):1277-84.
- Bole-Feysot C et al. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998; 19(3):225-268.
- Boutin J et al. Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell* 1988; 53(1):69-77.
- Briski K, Swanson G, Sylvester P. Size and charge heterogeneity of pituitary and plasma prolactin in male rat. *Neuroendocrinology* 1996; 63(5):437-445.
- Brooks CL. Mecanismos moleculares de la prolactina y su receptor. *Endocr Rev* 33 (4): 504-25, 2012.
- Campo S et al. Carbohydrate complexity and proportions of serum FSH isoforms in the male: lectin-based studies. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 260-262:197-204.
- Carino M. Caracterización de la hormona prolactina: estudio bioquímico y morfológico en modelos experimentales y humanos. Tesis doctoral. Directores: Dres. RS Calandra y GM Cónsole, 2010.
- Cavaco B et al. Some forms of big big prolactin behave as a complex of monomeric prolactin with an immunoglobulin G in patients with macroprolactinemia or prolactinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80(8):2342-46.
- Champier J et al. Concanavalin-A-bound and -unbound prolactin in normal and hyperprolactinemic rats. *J Endocrinol* 1992; 134(1):27-32.
- Clapp C. Analysis of the proteolytic cleavage of prolactin by the mammary gland and liver of the rat: characterization of the cleaved and 16K forms. *Endocrinology* 1987; 121(6): 2055-64.
- Colombani M, Scaglia H. Formas moleculares de prolactina. *Boletín Informativo de la Sociedad Argentina de Andrología* 1996; 5:79-92.
- Cónsole GM, Jurado SB, Petruccelli M, Carino M, Calandra R, Gómez Dumm CL. Influence of photoinhibition on the morphology and function of pituitary lactotropes in male golden hamsters. *Neuroendocrinology* 2002; 75(5):316-325.
- Corbacho AM et al. Proteolytic cleavage confers nitric oxide synthase inducing activity upon prolactin. *J Biol Chem* 2000; 275(18):13183-86.
- Cosman D et al. A new cytokine receptor superfamily. *Trends Biochem Sci* 1990; 15(7):265-270.
- Denef C. Paracrinicity: the story of 30 years of cellular pituitary crosstalk. *J Neuroendocrinol* 2008; 20(1):1-70.
- Devi YS, Halperin J. Reproductive actions of prolactin mediated through short and long receptor isoforms. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382(1):400-410.
- Fang VS, Refetoff S. Heterogeneous human prolactin from a giant pituitary tumor in a patient with panhypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 47(4):780-787.
- Ferrara N, Clapp C, Weiner R. The 16K fragment of prolactin specifically inhibits basal or fibroblast growth factor stimulated growth of capillary endothelial cells. *Endocrinology* 1991; 129(2):896-900.

- Freeman ME et al. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000; 80(4):1523-1631.
- Gala RR, Shevach EM. Evidence for the release of a prolactin-like substance by mouse lymphocytes and macrophages. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 205(1):12-19.
- Glezer A et al. Human macroprolactin displays low biological activity via its homologous receptor in a new sensitive bioassay. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(3):1048-55.
- Goffin V, Martial JA, Summers NL. Use of a model to understand prolactin and growth hormone specificities. *Protein Eng* 1995; 8(12):1215-31.
- Goffin V et al. Should prolactin be reconsidered as a therapeutic target in human breast cancer? *Mol Cell Endocrinol* 1999; 151(1-2): 79-87.
- Guido R et al. Prolactin decrease and shift to a normal-like isoform profile during treatment with quina-
golide in patient affected by an invasive prolactinoma. *J Endocrinol Invest* 1997; 20(5):289-293.
- Haro LS et al. Glycosylated human prolactin: alterations in glycosylation pattern modify affinity
for lactogen receptor and values in prolactin radioimmunoassay. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;
71(8):379-383.
- Hattori N et al. Immunoglobulin G subclasses and prolactin (PRL) isoforms in macroprolactinemia due
to anti-PRL autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(5):3036-44.
- Hattori N, Inagaki C. Anti-prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia:
bioassay and clearance studies of PRL-immunoglobulin G complex. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;
82(9):3107-10.
- Hattori N et al. Subclases de inmunoglobulina G e isoformas de prolactina (PRL) en macroprolactinemia
debido a autoanticuerpos anti-PRL. *J Clin Endocrinol Metab* 90 (5): 3036-44, 2005.
- Ho TW et al. Secretion of specific nonphosphorylated and phosphorylated rat prolactin isoforms at dif-
ferent stages of the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 1993; 58(2):160-165.
- Ignacak A et al. Prolactin-not only lactotrophin. A "new" view of the old hormone. *J Physiol Pharmacol*
2012; 63(5): 435-443.
- Jarry H et al. Contrasting effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) on in vivo
and in vitro prolactin and growth hormone release in male rats. *Life Sci* 1992; 51(11):823-930.
- Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay MC, Edery M. The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr*
Rev 1991; 12(3):235-251.
- Kline J, Roehrs H, Clewenger CV. Functional characterization of the intermediate isoform of the human
prolactin receptor. *J Biol Chem* 1999; 274(50):35461-8.
- Larrea F et al. Familial occurrence of big-big prolactin as the predominant immunoreactive human pro-
lactin species in blood. *Fertil Steril* 1987; 47(6):956-963.
- Larrea F et al. A bioactive 60-kilodalton prolactin species is preferentially secreted in cultures of mito-
gen-stimulated and nonstimulated peripheral blood mononuclear cells from subjects with systemic
lupus erythematosus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(11):3664-69.
- Leaños-Miranda A et al. Application of new homologous in vitro bioassays for human lactogens to assess
the actual bioactivity of human prolactin isoforms in hyperprolactinemic patients. *Clin Endocrinol*
(Oxf) 2006; 65(8):146-153.
- Leaños-Miranda A et al. Biologic activity and plasma clearance of prolactin-IgG complex in patients with
systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001; 44(4):866-875.
- Leite V et al. Characterization of big, big prolactin in patients with hyperprolactinemia. *Clinical Endo-
crinol (Oxf)* 1992; 37(4):365-372.
- Lerant A, Freeman ME. Dopaminergic neurons in periventricular and arcuate nuclei of proestrous and
ovariectomized rats: endogenous diurnal rhythm of Fos-related antigens expression. *Neuroendocri-
nology* 1997; 65(6):436-445.
- Lesueur L et al. Comparison of long and short forms of the prolactin receptor on prolactin-induced milk
protein gene transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88(3):824-828.

- Lewis UJ et al. Glycosylated ovine prolactin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(2):385-389.
- Mai LM, Shieh KR, Pan JT. Circadian changes of serum prolactin levels and tuberoinfundibular dopaminergic neuron activities in ovariectomized rats treated with or without estrogen: the role of the suprachiasmatic nuclei. *Neuroendocrinology* 1994; 60(5):520-526.
- Markoff E et al. Glycosylation selectively alters the biological activity of prolactin. *Endocrinology* 1988; 123(3):1303-06.
- Matzkin ME et al. Prolactin (PRL) induction of cyclooxygenase 2 (COX2) expression and prostaglandin (PG) production in hamster Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 348(1): 33-46.
- Mounier C et al. Macroprolactinemia associated with prolactin adenoma. *Hum Reprod* 2003; 18(4):853-857.
- Noble RL, Beer CT, Gout PW. Evidence in vivo and in vitro of a role for the pituitary in the growth of malignant lymphomas in Nb rats. *Cancer Res* 1980; 40(7):2437-40.
- Nolin JM. Target cell prolactin, II. *Int Rev Cytol* 1985; 95:45-60.
- Nolin JM. Incorporation of endogenous prolactin by granulosa cells and dictyate oocytes in the postpartum rat: effects of estrogen. *Biol Reprod* 1980; 22(2):417-422.
- Obál F et al. Sleep in rats rendered chronically hyperprolactinemic with anterior pituitary grafts. *Brain Res* 1997; 755(1): 130-136.
- Patil MJ, Henry MA, Akopian AN. Prolactin receptor in regulation of neuronal excitability and channels. *Channels (Austin)* 2014; 8(3):193-202.
- Price AE et al. Studies on the microheterogeneity and in vitro activity of glycosylated and nonglycosylated recombinant human prolactin separated using a novel purification process. *Endocrinology* 1995; 136(11):4827-33.
- Rulli SB, Creus S, Pellizzari E, Cigorruga SB, Calandra RS, Campo S. Androgen regulation of immunological and biological activities of pituitary follicle-stimulating hormone isoforms in male rats. *Neuroendocrinology* 1999; 70(4):255-260.
- Rulli SB et al. Reproductive disturbances, pituitary lactotrope adenomas, and mammary gland tumors in transgenic female mice producing high levels of human chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 2002; 143(10):4084-95.
- Schietecatte J et al. Rapid detection of macroprolactin in the form of prolactin-immunoglobulin G complexes by immunoprecipitation with anti-human IgG-agarose. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(12):1244-48.
- Schuler LA et al. Heterogeneidad del receptor de prolactina: procesamiento y señalización de las isoformas largas y cortas durante el desarrollo. *Biochem Soc Trans* 29 (Pt 2): 52-6, 2001.
- Shelly S, Boaz M, Orbach H. Prolactin and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2012; 11(6-7):A465-470.
- Shoupe D et al. Prolactin molecular heterogeneity. Response to thyrotropin-releasing hormone stimulation of concanavalin A-bound and -unbound immunoassayable prolactin during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 147(5):482-487.
- Sinha Y. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 1995; 16(3):354-369.
- Sinha YN et al. Isolation and biochemical properties of four forms of glycosylated porcine prolactin. *Mol Cell Endocrinol* 1991; 80(1-3): 203-213.
- Stocklin E et al. Functional interactions between Stat5 and the glucocorticoid receptor. *Nature* 1996; 383(6602):726-728.
- Stocklin E et al. Specific DNA binding of Stat5, but not of glucocorticoid receptor, is required for their functional cooperation in the regulation of gene transcription. *Mol Cell Biol* 1997; 17(11):6708-16.
- Suh H, Frantz A. Size heterogeneity of human prolactin in plasma and pituitary extracts *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 39(5):928-935.
- Tan DY, Peng XP. Progress in prolactin receptor research. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* 2012; 43(1): 17-23.
- Tanaka T et al. A new sensitive and specific bioassay for lactogenic hormones: measurement of prolactin and growth hormone in human serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51(5):1058-63.

- Teilum K et al. Solution structure of human prolactin. *J Mol Biol* 2005; 351(4):810-823.
- Torres AI, Haggi ES, Aoki A. Isolation of two different pools of pituitary prolactin. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1984; 107(1):25-30.
- Trott JF et al. Alternative splicing to exon 11 of human prolactin receptor gene results in multiple isoforms including a secreted prolactin-binding protein. *J Mol Endocrinol* 2003; 30(1):31-47.
- van Coppenolle F et al. Prolactin stimulates cell proliferation through a long form of prolactin receptor and K⁺ channel activation. *Biochem J* 2004; 377(Pt 3): 569-578.
- Vomachka AJ, Greenwald GS. The development of gonadotropin and steroid hormone patterns in male and female hamsters from birth to puberty. *Endocrinology* 1979; 105(4):960-966.
- Waldstreicher J et al. Gender differences in the temporal organization of prolactin (PRL) secretion: evidence for a sleep-independent circadian rhythm of circulating PRL levels- a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(4):1483-87.
- Whittaker PG, Wilcox T, Lind T. Maintained fertility in a patient with hyperprolactinemia due to big, big prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53(4):863-866.
- Yang X, Meyer K, Frield A. STAT5 and prolactin participate in a positive autocrine feedback loop that promotes angiogenesis. *J Biol Chem* 2013; 288(29):21184-96.

20.1. Terapia génica

La terapia génica se ha posicionado como una opción real y segura en el desarrollo de alternativas terapéuticas para la cura y prevención de diferentes enfermedades. Consiste en la inserción de material genético en una célula defectuosa, mediante el uso de un vector que debe ser el más apropiado por la capacidad del material genético a transferir y la ausencia de toxicidad. Los *vectores virales* más utilizados son los derivados de virus adenoasociados (AAV). Características como la bioseguridad, la baja toxicidad y el tropismo selectivo han permitido su evaluación como opción terapéutica en las enfermedades monogénicas o complejas. A pesar de sus ventajas, los vectores AAV tienen inconvenientes, siendo el más importante la respuesta inmune del paciente al vector, en especial la respuesta mediada por anticuerpos neutralizantes (NAb). Por tanto, Hay que identificar y cuantificar la presencia de NABs que depende de la exposición al virus en la naturaleza y varía según la edad, la ubicación geográfica y el estado de salud del paciente. Los NABs disminuyen la transducción del vector e impiden la expresión del gen que transporta, limitando su aplicación clínica (Sierra-Delgado y col., 2019).

En la **fig. 20.1** se presentan los tipos de terapia génica: *in vivo* y *ex vivo*.

Terapia *in vivo*: gen terapéutico se empaqueta en un vector y es inyectado en el paciente.

Terapia *ex vivo*: las células madre modificadas genéticamente y diferenciadas *in vitro* reciben el gen terapéutico empaquetado en un vector y son reintroducidas en el paciente.

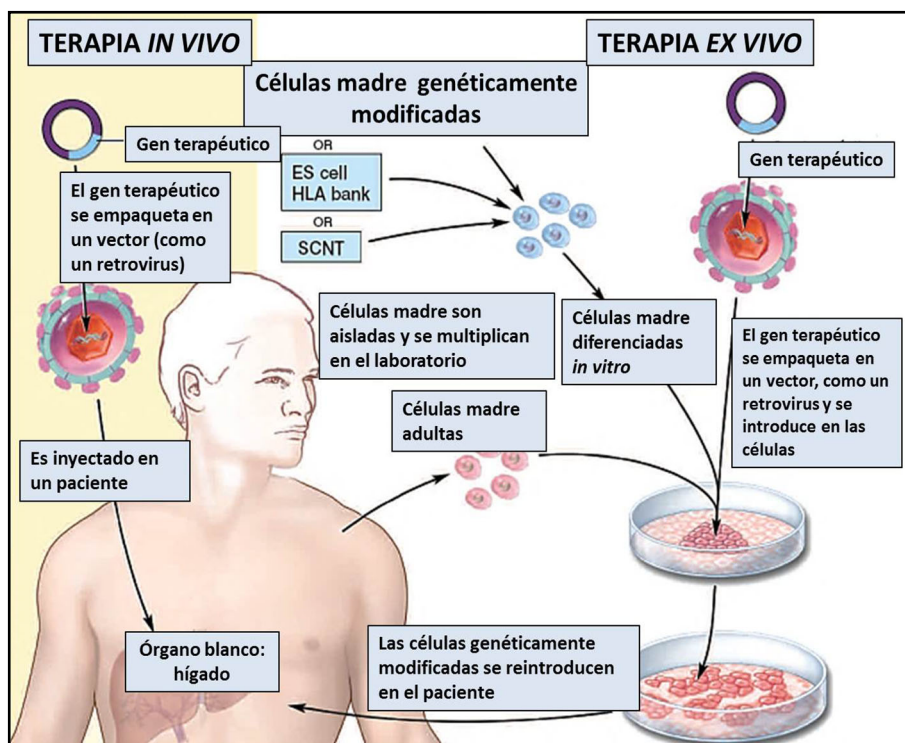


Fig. 20.1 Terapias génicas *in vivo* y *ex vivo* (Google sites).

La pérdida, mutación o alteración de los genes que codifican moléculas involucradas en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular marcan el inicio del desarrollo neoplásico, con activación de genes promotores del crecimiento, protooncogenes e inactivación de genes supresores tumorales. Hay componentes hereditarios que afectan algunas formas de neoplasias endocrinas, pero la mayoría de las mutaciones son somáticas y se deberían a carcinógenos químicos, físicos (radiaciones) o farmacológicos. La neoplasia surge de la progresión de múltiples defectos genéticos y epigenéticos que llevan a la desregulación de las redes de señalización (Yan y col., 2014).

El análisis de los modelos de ratones modificados genéticamente que desarrollaron adenomas pituitarios ha revelado la presencia de moléculas reguladoras del ciclo celular, genes supresores tumorales y la señalización del factor de crecimiento en el proceso de tumorigénesis (Fukuoka y Takahashi, 2014)

Los adenomas pituitarios son neoplasias de tipo benigno originadas en las poblaciones adenohipofisarias y representan la patología neuroendocrina más frecuente en humanos (prevalencia de 16.7%) (Ezzat y col., 2004) y en ratas hembras envejecidas (Burek, 1978). Los tumores pituitarios rara vez generan metástasis a distancia. Aunque esta característica permite al neurocirujano esparcir tejido pituitario sin riesgo de diseminación celular tumoral, las células neoplásicas infiltrantes del parénquima pituitario normal pueden llevar a recidivas del tumor. La cirugía tumoral pituitaria se complementa con radioterapia y aunque esta combinación terapéutica es a menudo efectiva para prevenir la recidiva tumoral, puede cursar con hipopituitarismo debido a la excesiva destrucción del parénquima pituitario normal (Little y col., 1989).

En este contexto, la terapia génica parece ser una alternativa superior a la radioterapia para el tratamiento de los tumores pituitarios. En efecto, después de la remoción tumoral, la inyección intraquirúrgica de un vector suicida apropiado dentro del parénquima pituitario puede llevar a la completa eliminación de las células neoplásicas remanentes, sin afectar a las células sanas (Castro y col., 2001).

La pérdida excesiva de neuronas dopaminérgicas tuberoinfundibulares (TIDA) durante el envejecimiento de la rata se asocia con una progresiva hiperprolactinemia y subsecuente desarrollo de micro y/o macroprolactinomas. El mismo tipo de prolactinomas puede ser inducido mediante la administración crónica de estrógenos, los cuales en altas dosis poseen efectos tóxicos sobre las neuronas TIDA. Los prolactinomas representan la patología prevalente en ratas hembras envejecidas (Burek, 1978).

La glándula pituitaria produce varios factores de crecimiento (Webster y col., 1989; Halper y col., 1992) y péptidos bioactivos que pueden afectar la función y la proliferación de las células pituitarias a través de acciones autocrinas o paracrinas (Houben y Deneff, 1994).

La terapia génica emplea portadores virales y no virales para el transporte del gen específico y facilita la producción de la proteína terapéutica deseable (Bakhtiar y col., 2014). El factor de crecimiento insulino-símil tipo I (IGF-I) está distribuido a través de los lóbulos anterior e intermedio de la pituitaria (D'Ercole y col., 1984) y se ha demostrado como prometedor para el tratamiento de los tumores pituitarios experimentales. La terapia con IGF-I provocó regresión de los prolactinomas estrógeno-inducidos en ratas (Cónsole y col., 2008 y 2009).

La terapia génica puede ser definida como una herramienta farmacológica que utiliza ácidos nucleicos (ADN o ARN) como drogas para curar o prevenir una enfermedad. La terapia génica puede transmitir genes, fragmentos de genes o secuencias en sentido antiparalelo al gen para anular su función, así como secuencias reguladoras de la transcripción del gen a transferir (Jain, 1998).

La terapia génica utiliza vectores o vehículos para administrar los ácidos nucleicos. Los vectores pueden ser no virales (ADN desnudo, liposomas y complejos ADN-proteína) y virales (retrovirus, herpesvirus, adenovirus, virus adenoasociados, lentivirus). Aunque la terapia génica requiere de una profunda investigación antes de que pueda ser usada para el tratamiento de enfermedades pituitarias en humanos, la versatilidad de esta técnica ofrece posibilidades únicas para el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas. Esto incluye la regresión tumoral, la suplementación de genes anormales y la normalización de la secreción hormonal. Cuando los tumores pituitarios no responden a las estrategias terapéuticas convencionales, la terapia farmacológica no está bien tolerada, el tumor deviene agresivo o se dificulta su tratamiento, la terapia génica puede ser una atractiva opción. Con la neurocirugía, la terapia génica

podría potenciarse y proveer una remisión a largo plazo. Las terapias convencionales como la quimioterapia y la radioterapia se asocian a bajas tasas de supervivencia, debido a la resistencia a los fármacos y a la falla en el blanco, con efectos adversos sobre las células sanas.

20.2 Estrategias de terapia génica

Existen diferentes estrategias de terapia génica (cuadro 20.1).

Cuadro 20.1 Estrategias de terapia génica.

- 1. Terapia génica correctiva:**
 - Inactivación de oncogenes.
 - Introducción de genes tumorales supresores.
- 2. Terapia génica anti-angiogénica.**
- 3. Terapia génica suicida.**
- 4. Terapia génica inmunomoduladora:**
 - Inmunización activa.
 - Modificación genética de las células inmunes.

A. Terapia génica correctiva: se introduce una copia correcta del gen supresor para restaurar el crecimiento celular normal o para inducir apoptosis en las células neoplásicas. Por ejemplo, la terapia génica *antisense* usa oligonucleótidos que suprimen la expresión de genes nocivos. Estos oligonucleótidos *antisense* son pequeñas cadenas de ARN modificado que contienen una secuencia complementaria a un ARN blanco, interfiriendo en su transporte, corte y traslación. Para la introducción de estos oligonucleótidos se han usado vectores virales y no virales.

La terapia génica para el tratamiento de los tumores pituitarios está basada en la transferencia de genes con habilidad para rescatar el fenotipo normal de las células neoplásicas, en base al que se implementó en los ratones heterocigotas para el retinoblastoma con gen supresor (ratón Rb^{+/-}). El gen del retinoblastoma es el supresor tumoral prototipo. Los tumores pituitarios espontáneos melanotropos que surgen en ratones Rb^{+/-} fueron tratados con un adenovirus recombinante que lleva el ADNc RB, logrando la disminución de la proliferación tumoral (Hu y col., 1994), con restablecimiento de la innervación mediante neuronas dopaminérgicas reguladoras del crecimiento asociado a una mayor sobrevida comparada con los controles no transfectados (Riley y col., 1996).

B. Terapia génica anti-angiogénica: el crecimiento tumoral y su capacidad metastizante dependen de la habilidad de las células tumorales para establecer un flujo sanguíneo mediante *neoangiogénesis*. Este proceso está estimulado por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento α derivado de las plaquetas, el factor de crecimiento fibroblástico básico (FGFb), el factor de crecimiento epidérmico (FGE) y la interleuquina 8 (IL-8). Otros factores actúan como inhibidores angiogénicos: trombospondina 1, factor plaquetario 4 (FP4), angiostatina y endostatina. La terapia anti-angiogénica inhibe la expresión de las moléculas angiogénicas mediante sobreexpresión de las moléculas anti-angiogénicas o por medio de una lisis de las células endoteliales que conduce a una regresión tumoral debida a apoptosis (O'Reilly y col., 1997).

C. Terapia génica suicida: la terapia con genes suicidas ha sido ampliamente usada en tumores pituitarios, *in vitro* e *in vivo*. Un vector adenoviral recombinante (RAd), el RAdTK, transportando el gen suicida HSV-TK, bajo el control del promotor del citomegalovirus humano (CMVh), fue usado para transferir el gen de la TK a células de las líneas tumorales GH₃ y AtT₂, y al ser tratadas con la prodroga ganciclovir se produjo gran destrucción de los cultivos, ya que deviene tóxica luego de su fosforilación.

Los prolactinomas inducidos con estrógeno/sulpirida fueron estereotáxicamente inyectados con **RAd-TK**. La subsecuente inyección de los animales huéspedes con dos dosis diarias de ganciclovir durante una semana, redujo parcialmente el tamaño del prolactinoma y los niveles de PRL (Windeatt y col., 2000). La terapia génica, usando vectores adenovirales transportadores del gen de **TK** bajo el control de promotores hormonales pituitarios, por lo común las subunidades β -promotoras de GH humana y hormonas glicoproteicas, fueron efectivas para el tratamiento de las líneas tumorales *in vitro* (Lee y col., 1999). Un vector adenoviral, codificando el gen **TK** bajo el control del promotor de **PRLh** fue efectivo para inducir apoptosis en células GH₃ en un cultivo expuesto a ganciclovir. Sin embargo, esto no redujo de modo significativo el crecimiento y el porcentaje de PRL secretada en prolactinomas estrógeno-inducidos *in vivo* (Southgate y col., 2000). Los vectores adenovirales, transportadores del gen de la **TK**, bajo ambos promotores **CMVh** y **PRLh**, mostraron expresión del transgén por más de 3 meses *in situ* en pituitaria anterior normal de rata (Southgate y col., 2001). Los ratones *nude*, portadores de tumores subcutáneos injertados con células GH₃, fueron tratados exitosamente con un vector adenoviral transportador del gen de la **TK**, bajo el control del promotor de la **GHh** (Lee y col., 1999).

D. Terapia génica inmunomoduladora: la modificación genética de las células tumorales permite que expresen diferentes citoquinas (**IL-2**, **IL-12**), factor estimulante de la colonia granulocítica-macrofágica y factor de necrosis tumoral que son factores quimiotácticos para las células presentadoras de antígenos y activadores de la respuesta inmune. También pueden usarse vectores que induzcan la expresión de antígenos asociados a tumores bajo la forma de vacunas recombinantes (Tang y col., 1992). Aunque los métodos actuales de transferencia génica comprenden ensayos virales y no-virales, la aplicación de los últimos para el tratamiento de los tumores pituitarios no está aún bien documentada. La utilización de los vectores virales recombinantes es debida a su gran eficiencia.

Los vectores virales incluyen:

- **Retrovirus:** (Kohn y col., 1987; Gilboa, 1988; Short y col., 1990; Prel y col., 2013; Miller, 2014; Kobayashi y col., 2014), **virus herpes simple tipo 1** (Roizman, 1996; Wolfe y col., 1999; Tomasec y col., 1996; Goins y col., 2014), *adenovirus* (Hitt y col., 1995; Parks y col., 1996; Bergelson y col., 1997; Hidaka y col., 1999; Williams y col., 2001; Castro y col., 1997; 2001; 2014).
- **Virus adeno-asociados:** (Balakrishnan y Jayandharan, 2014) y **lentivirus** (Blesch, 2004, Vogel y col., 2004; Segura y col., 2013; Nasri y col., 2014; Ghanbari y col., 2014)
- **Vectores no virales:** incluyen **liposomas** (Zong y col., 2014; Ding y col., 2014) y **ADN desnudo** (Zhan y col., 2014; Zhang y col., 2014).

Los virus oncolíticos han recibido gran atención por su potencial para innovar la terapia génica en cáncer. Las telomerasas de vectores adenovirales oncolíticos que conservan **E1A** y **E1B** en la replicación adenoviral resultan eficaces sobre las células neoplásicas (Wei y col., 2014). En la glándula pituitaria, las estrategias de la terapia génica se relacionan con la aplicación de los vectores derivados de adenovirus que se usan con fines de investigación básica y en aplicaciones terapéuticas en el sistema neuroendocrino. Los adenovirus son virus ADN sin membrana, genoma de 36 Kb y con capacidad para infectar una amplia variedad de células en reposo o en mitosis. Los receptores celulares para adenovirus son los denominados receptores de alta afinidad **CAR** (Coxackie y Adenovirus Receptor) que se adhieren a la proteína viral (Bergelson y col., 1997) y a las integrinas $\alpha_v\beta_3$ que interactúan con la base pentamérica viral (Hidaka y col., 1999).

Se están aplicando terapias génicas con vectores que utilizan un transgén terapéutico específico, causando la muerte de las células neoplásicas y respetando a las células sanas (Pazarentzos y Mazarakis, 2014). El **ARNi** inhibe la expresión génica mediante la degradación del ARNm diana específico, provocando el silenciamiento de los genes. Su uso en combinación con los vectores virales de ingeniería genética permite una alta eficiencia de entrega y/o integración con el ADN genómico en el tratamiento de las neoplasias (Stovall y col., 2012). Existe un **ARNi** combinado que actúa sobre objetivos múltiples en la terapia del cáncer (Fei y col., 2012) y se han confeccionado pantallas de **ARNi**

que identifican homeodominios (ejemplo: PHF5a), aplicables a tumores cerebrales humanos (Hubert y col., 2013). La inhibina, un miembro de la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), es un supresor de la FSH liberada a través del mecanismo de retroalimentación para regular el desarrollo folicular que puede ser anulada por un **RNAi**. El silenciamiento del gen de la inhibina produjo un aumento de ARNm y un efecto de apoptosis en la pituitaria anterior (Han y col., 2013). La tecnología ARNi sondea la función del gen y puede mejorar la viroterapia oncolítica (Mahoney y Stojdl, 2013). Además, los oligonucleótidos de ARN capaces de inducir una inmunoestimulación, con silenciamiento del oncogén mediante el **ARNi**, proporcionan un mecanismo de inhibición sinérgica del crecimiento de las células neoplásicas (Sajeesh y col., 2014).

20.3 El ciclo de infección del adenovirus

El ciclo de infección de adenovirus (Ad) y del vector adenoviral recombinante (RA) se muestra en la **fig. 20.2**.

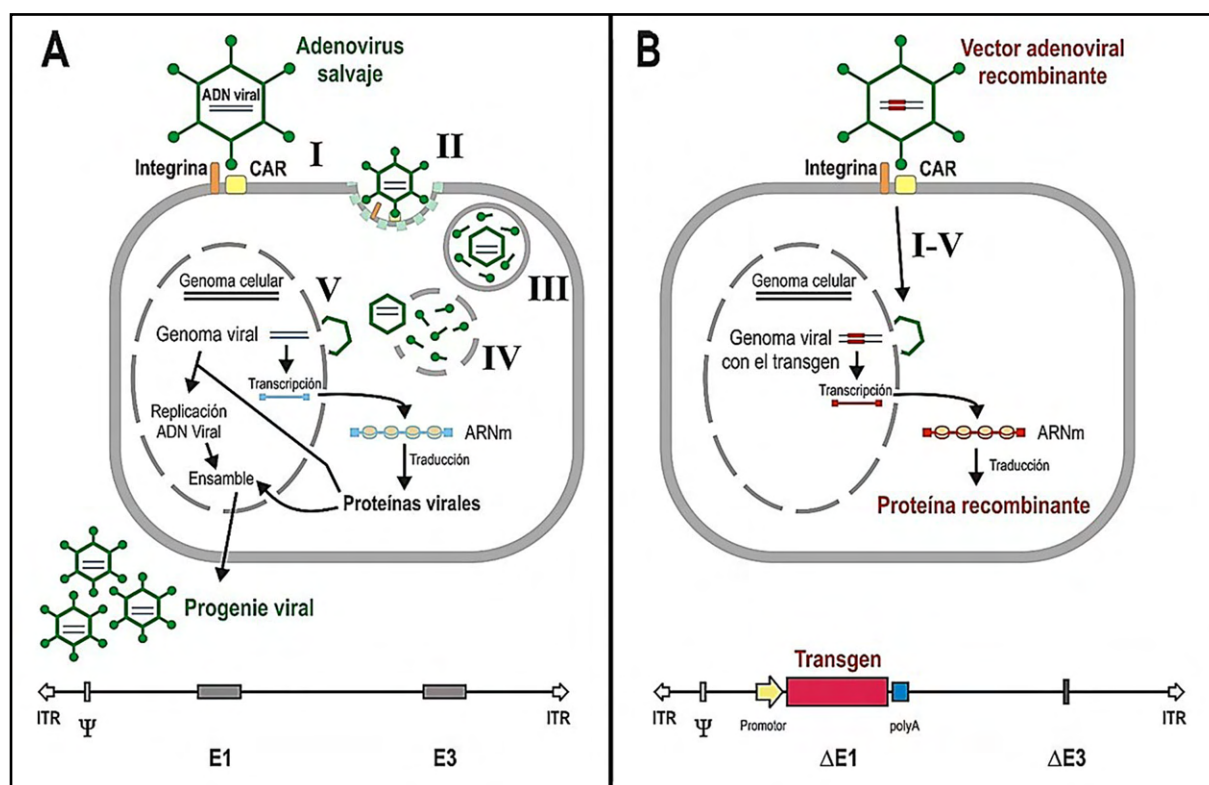


Fig. 20.2 Ciclo de infección: adenovirus (Ad) y vector adenoviral recombinante (RA).

A. Adenovirus salvaje: se une a los receptores de la membrana celular y es endocitado. El ADN viral es transferido al núcleo donde forma un *episoma*. Luego de la replicación viral del ADN, se expresan genes virales que codifican para proteínas estructurales que van al núcleo donde generan cápsides virales. Las partículas maduras se liberan por citólisis. B) Vector adenoviral recombinante: entra en las células blanco y transfiere su ADN al núcleo. El genoma del vector carece de región genómica E1 y la replicación del ADN viral no sucede. El transgén se expresa produciendo niveles altos de proteína transgénica, no se generan nuevas partículas virales y no hay citólisis.

B. Adenovirus (Ad): Un Ad de tipo salvaje se une de modo específico a receptores de membrana y a continuación es endocitado. Luego el ADN viral es transferido al núcleo donde permanece como un *episoma*. Después de la replicación viral, se expresan genes virales que endocodifican proteínas estructurales. La mayor parte de las proteínas recién sintetizadas van al núcleo donde se ensamblan para generar *cápsides*. El ADN viral es luego empaquetado generando partículas adenovirales maduras que llenan la célula huésped y por citólisis liberan los virus.

Vector adenoviral recombinante (RA): Los vectores adenovirales en replicación defectuosa entran a las células blanco y transfieren su ADN al núcleo como ya se describió. Sin embargo, como el genoma del vector Ad no tiene una región genómica E1, no ocurre la replicación del ADN viral. El **transgén** (usualmente bajo el control de promotor fuerte) es activamente expresado, dando altos niveles de proteína transgénica. No se generan nuevas partículas virales y no ocurre citólisis. Los genomas virales correspondientes se muestran diagramados abajo (Rodríguez et al., 2009).

En la última década, el oncogén gatilla la potencial lucha contra el cáncer y el ARN de interferencia (ARNi) resulta una herramienta valiosa para identificar los oncogenes en las nuevas estrategias terapéuticas (Yan y col., 2014). La entrega de genes terapéuticos potenciales a las células cancerosas abre nuevas perspectivas: **a.** Terapia de reemplazo con genes tumorales supresores; **b.** Terapia génica inmune y **c.** Terapia basada en prodrogas (Bakhtiar y col., 2014).

20.4 Vectores virales

El desarrollo de los vectores virales tiene por fin la transferencia de los transgenes con especificidad del tipo celular y el diseño de vectores, con la incorporación del transgén dentro de la célula que es regulada en su expresión mediante pequeñas moléculas. La especificidad del tipo celular se obtuvo en modelos animales *in vivo* conduciendo de manera selectiva la expresión del transgén, bajo el control de los promotores de GH (Lee y col., 2000), α y β -glicoproteína (Lee y col., 2000), POMC (Lee y col., 2001a) y PRL (Castro y col., 1997; Davis y col., 2001; Southgate y col., 2001) para células tumorales pituitarias. Los sistemas de expresión génica con inducción temprana encontraron limitaciones tales como los efectos pleiotrópicos del inductor, la toxicidad de los agentes inductores y el bajo nivel de expresión. Sin embargo, el control de la expresión del transgén no tóxico fue hecho mediante el sistema de control génico de la tetraciclina (Gossen y Bujard, 1992). Dos tipos de sistemas de control génico de **Tet** han sido comunicados. Un sistema Tet-Off que está compuesto por un transactivador **Tet**, un **HSV-1** que se une a reguladores *E. coli*-derivados del operon Tet-resistencia dentro del promotor CMV (**tetO/minCMV**). El segundo tipo de sistema de control génico es el sistema Tet-On. Aquí el tTA es modificado por cuatro aminoácidos con un **Tet** análogo, la doxiciplina (**DOX**) se une a la región **tetO/minCMV** e induce altos niveles de la expresión del transgén. Un número de sistemas virales regulables **Tet** han sido desarrollados, incluyendo el sistema adenoviral dual Tet-off para el gen reporter β -gal con secuencias ADN codificadoras del transactivador **tTA**, ubicado bajo el control del promotor **hPRL**. Con este sistema, la expresión del transgén específico en las lactotropas de roedores fue realizada *in vitro* e *in vivo*. Además, esta expresión puede ser apagada mediante la administración de **DOX** y nuevamente activada cuando se remueven los antibióticos (Smith-Arica y col., 2001).

Se ha construido un sistema similar de vector adenoviral regulable, en este caso expresando tirosina hidroxilasa (**TH**) bajo el control de un promotor **CMVh**. Como la **TH** es una enzima limitante de la síntesis de dopamina, el crecimiento de los prolactinomas estrógeno-inducidos estuvieron significativamente inhibidos cuando co-transdujeron con los componentes de los dos vectores del sistema vector regulable **TH**. La expresión de **TH** puede apagarse mediante **DOX** y activarse mediante la remoción del antibiótico (Williams y col., 2001). Algunos resultados parciales en la terapia génica de los tumores pituitarios emergen como un área prometedora. Las lactotropas de adenomas humanos fueron exitosamente transducidos con un vector adenoviral transportador del ADNc para **TH** humana. Las células transducidas no sólo expresan **TH** detectable por inmunocitoquímica, sino que también liberan altos niveles L-DOPA y dopamina, reduciendo marcadamente la liberación de PRL en el medio de cultivo (Freese y col., 1996).

Los vectores adenovirales pueden provocar inflamación en la glándula pituitaria y este efecto adverso sería prevenido usando vectores virales bidireccionales que expresen el gen para **HSV-1 TK** y un gen para el péptido anti-inflamatorio del tipo de la timulina. Alternativamente, el uso de los vectores virales menos inmunogénicos, como los vectores virales adeno-asociados, podría ser considerado para el tratamiento de tumores pituitarios. Aunque el sistema suicida **HSV1-TK-GCV** ha sido usado para implementar una terapia génica experimental destructiva en la terapia de tumores pituitarios, otros sistemas tóxicos pueden ofrecer ventajas sobre el sistema **TK-GCV**.

Los estudios con vectores recombinantes adenovirales portadores de ADNsc para tres genes tóxicos, comúnmente codificados como el **HSV1-TK**, el *E. coli* citosina deaminasa y el deoxicidina kinasa, mostraron que la citosina deaminasa tiene mayor eficacia para reducir el crecimiento de diferentes líneas

celulares del carcinoma pulmonar (Hoganson y col., 1996). Las terapias génicas negativas dominantes y *antisense* pueden constituir estrategias alternativas para el tratamiento de los tumores pituitarios. La supresión de la expresión del factor de crecimiento fibroblástico endógeno básico (**FGFb**), por medio de un vector adenoviral transportador del transgén *antisense* para **FGFb**, causó inhibición de la proliferación de células gliomatosas humanas. El mismo efecto fue logrado por medio del vector adenoviral transportador del transgén para el receptor **FGF** (Aoki y col., 2002).

Como se mencionó, la limitación crítica de los vectores adenovirales proviene de una fuerte respuesta inmune contra las partículas virales y las células infectadas. Dicha respuesta inmune limita la expresión a largo plazo de los transgenes porque los linfocitos T citotóxicos destruyen a las células infectadas y previenen la re-administración de dicho vector. Las estrategias comunes para vencer las respuestas inmunes inducidas por adenovirus incluyen el uso de los vectores adenovirales transportando genes inmunosupresores (Ideguchi y col., 2000); también se administran drogas inmunosupresoras como la ciclosporina (Geddes y col., 1996) y se utiliza la tolerancia oral a antígenos virales (Ilan y col., 1997).

En las **figs. 20.3-20.4** se ven adenovectores con gen corregido antes de entrar a la célula.

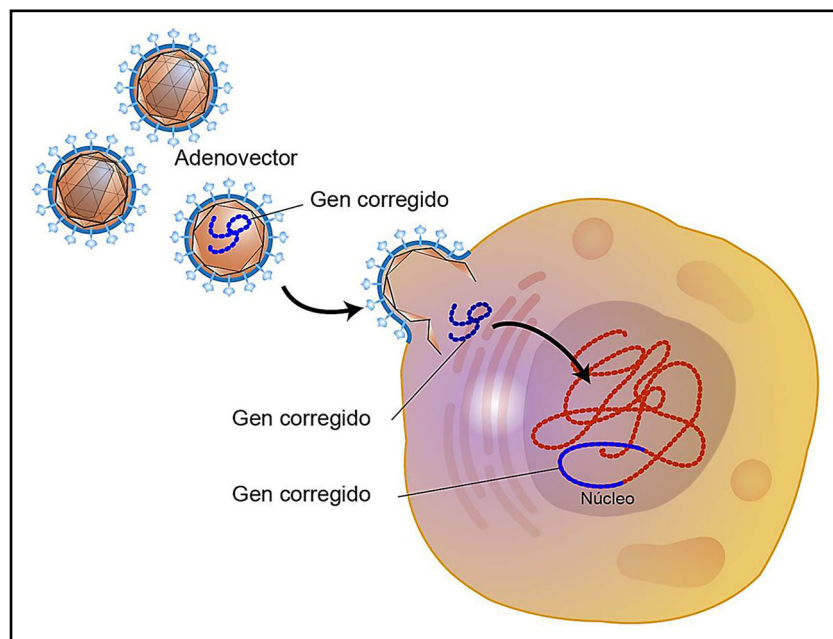


Fig. 20.3 Adenovector (National Human Genome Research Institute).

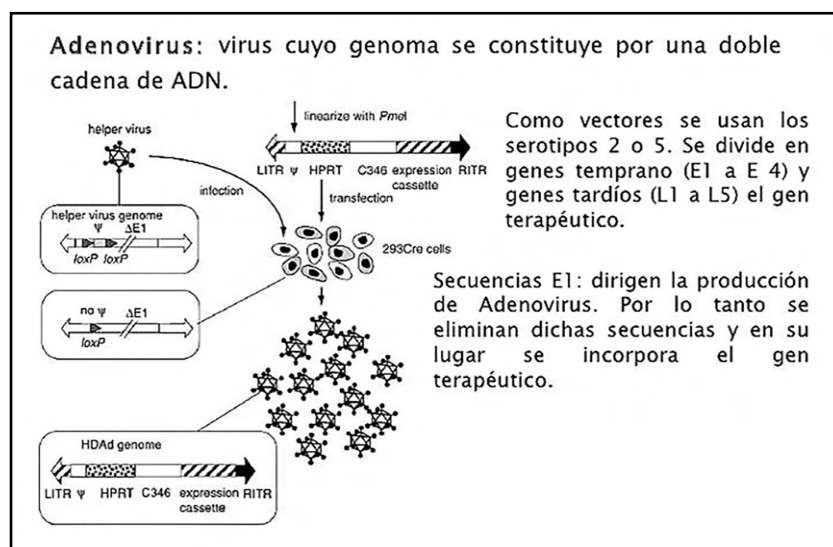


Fig. 20.4 Adenovector: incorporación del gen terapéutico (Slideshare).

En el **cuadro 20.2** se presentan las características de los diferentes vectores virales.

Cuadro 20.2 Características de los tipos de vectores virales (Rodríguez y col., 2009).

Características	Adenovirus (Ads)		Virus Herpes Simplex		Retrovirus		AAV
	1° generación adenovirus recombinantes	HD-Ads	Amplificones	Recombinante	Clásicos	Lentivirus	
Integración genoma- huésped	No	No	No	No	Sí	Sí	Sí
Capacidad: Tamaño máximo de inserción	8 Kb	36 Kb	15 Kb	Depende de los genes deletados.	7 Kb	7 Kb	4 Kb
Proliferación en células infectadas	Reposo Mitosis	Reposo Mitosis	Reposo Mitosis	Reposo Mitosis	Mitosis	Reposo Mitosis	Reposo Mitosis
Immunogenicidad en huésped	Alta	Baja	Baja	Variable	Baja	Baja	Baja
Expresión a largo plazo	No	Sí	No	No	No	Sí	Sí
Preparación y manipulación	Fácil	Dificultad: Eliminación de stocks. Poner en escala.	Fácil manipulación. Se contamina con virus colaboradores	Fácil	Fácil	Fácil	Dificultad: Purificar Poner en escala
Ventajas para el tratamiento	Buen tropismo Transducción Altos títulos	Buen tropismo. Infección. Mayor expresión del transgén.	Buen tropismo Baja toxicidad	Buen tropismo Capacidad transgénica.	Expresión transgénica persistente.	Buen tropismo y transducción.	Ninguna
Desventajas para uso clínico	Inflamación Expresión transgén: Corto plazo.	Contamina on virus helpers.	Expresión no neuronal transitoria.	Expresión no neuronal transitoria.	Mutagénesis Insercional	Potencial actividad infective.	Mutagénesis insercional.

AAV: adenovirus asociado; Ads: adenovirus; HD-Ads: adenovirus helper dependiente.

Los **vectores adenovirales** tienen **ventajas**:

- Capacidad de transporte de grandes cantidades de ADN.
- Posibilidad de lograr transferencias *in vivo* en una amplia variedad de células (benignas o malignas).
- Habilidad para infectar células mitóticas y post-mitóticas.
- Facilidad para la producción del vector. Los adenovirus poseen doble cadena de ADN y luego de la transfección, la expresión del gen decrece en no más de 4 semanas.

Además, estos virus no se integran al genoma de la célula blanco. El proceso de entrada del virus a la célula es iniciado por su unión a una proteína de membrana denominada Receptor de Cocksakie y Adenovirus (CAR) y luego se internaliza a nivel citoplasmático. Una disminución progresiva en el pH del endosoma causa un cambio conformacional de las proteínas de la cápside del virión y esto resulta en la liberación de la cápside viral en el citoplasma. Luego sigue su camino hasta el núcleo donde comienza la replicación. Una de las desventajas de estos vectores es que resultan altamente inmunogénicos, lo que hace que su nueva administración sea menos efectiva, a medida que se desarrolla la respuesta inmune. Para evitarlo, se han diseñado nuevos vectores adenovirales que resultan menos inmunogénicos. La inyección estereotáxica de los vectores adenovirales transportando el gen de la *E. coli* β -galactosidasa (β -gal) bajo el control de los promotores de PRL (PRLh) o CMVh en la pituitaria de oveja lleva a altos niveles de la expresión del transgén hasta 7 días después de la cirugía. El examen histológico de estas pituitarias reveló grados variables de respuesta inflamatoria con fibrosis periglandular, infiltrados linfocíticos y vasculitis en casi todos los casos (Davis y col., 2002).

En otros estudios *in vivo* en ratas se ha demostrado que la administración intravascular de vectores adenovirales, llevando el gen β -gal bajo el control de promotores de β -subunidades de hormonas glicoproteicas, fallan para expresar el transgén a nivel pituitario. Por el contrario, la inyección estereotáxica de

estos vectores en la pituitaria de ratas fue exitosa para la expresión selectiva de transgenes en las poblaciones adenohipofisarias específicas (Lee y col., 2000). El vector **tsK** fue efectivo para la transferencia *in vivo* del gen β -gal en prolactinomas de rata (Bolognani y col., 2001; Carri y col., 2005).

Los genes adenovirales pueden ser clasificados como **genes tempranos** que codifican proteínas reguladoras expresadas antes de la replicación del ADN y **genes tardíos**, expresados después de la replicación de ADN y que codifican proteínas estructurales. La región genómica temprana E1 es delecionada en los vectores adenovirales para tomarlos como replicación-defectivos. Esta región genómica E1 debe ser complementada en posición *trans* (en un ADN separado) para replicar el vector que es provisto por medio de una línea celular como la HEK 293, transfectada con los genes virales delecionados (Hitt y col., 1995). La primera generación de vectores adenovirales recombinantes adolece de las regiones genómicas E1 y E3, siendo la última delecionada para hacer más espacio en las secuencias exógenas.

La expresión de la proteína viral estimula una fuerte respuesta inmune, caracterizada por linfocitos T citotóxicos que eliminan las células infectadas (Yang y col., 1994). Para superar esta limitación, otras regiones genómicas se delecionaron para obtener nuevos vectores adenovirales. Los más prometedores son los denominados adenovectores "**Helpers-Dependientes**" (**HD**), en los cuales los genes adenovirales son delecionados y conservan sólo las terminales repetidas invertidas (TRI). Dichas terminales son necesarias para la replicación viral y para la señal de encapsulación. Como el vector no puede expresar ninguna proteína viral, la generación de los vectores HD requiere que todos los genes adenovirales provistos estén en posición *trans*, usualmente mediante coinfección con un adenovirus, denominado "virus colaborador" (Parks y col., 1996). Dicho virus, usado para generar los vectores HD, permanece a modo de contaminante. Varios sistemas se diseñaron para minimizar los títulos de virus colaboradores en los stocks virales HD (Parks y Graham, 1997).

Un vector adenoviral específico de células somatotropas fue construido en un fragmento de ADN, flanqueado por dos secuencias loxP, siendo ubicado entre el promotor de **GHh** y el gen de la toxina diftérica (**GHp-loxP-DT**). Cuando la línea celular GH₄ productora de GH fue cotransducida con este vector y con otra que expresa el cassette para **GHp-Cre**, hubo destrucción de los cultivos. Además, los tumores subcutáneos GH₄, generados en ratones *nude*, involucionaron cuando fueron topificados con dichos vectores (Lee y Jameson, 2002).

20.5 Transferencia génica pituitaria mediante estereotaxia (fig. 20.5)

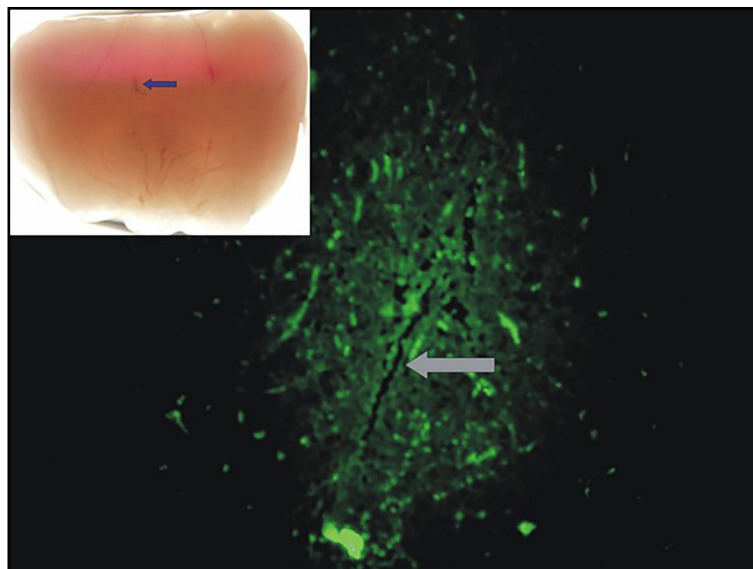


Fig. 20.5 Expresión de $(PFV/TK)_{fus}$ en un adenoma pituitario de rata (Rodríguez y col., 2009).

La fluorescencia verde muestra las células transducidas alrededor del orificio de entrada (flecha) de la aguja usada para inyectar $RAAd-(GFP/TK)_{fus}$ en el tumor mediante estereotaxia (IF x 400).

Recuadro: se aprecia el mismo adenoma pituitario en el que se puede ver el orificio de entrada de la aguja (flecha).

Este vector mostró que expresa altos niveles de fluorescencia en cultivos de células de la línea A549 de un tumor pulmonar y lisó dichas células cuando el ganciclovir fue agregado a los cultivos (**fig. 20.6**).

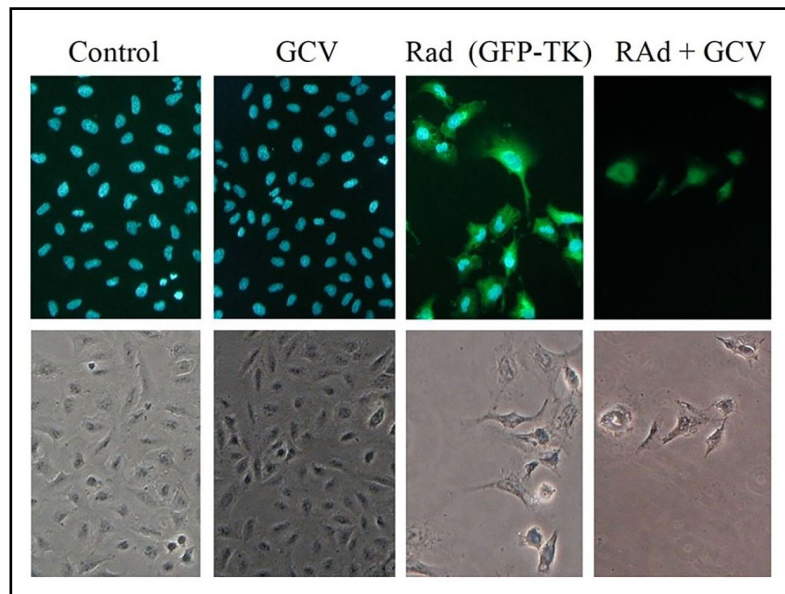


Fig. 20.6 Actividad suicida de una proteína de fusión PFV/TK (Rodríguez y col., 2009). *Paneles superiores:* imágenes de fluorescencia y *paneles inferiores:* contraste de fases. *Panel extremo izquierdo:* células control (DAPI: fluorescencia azul). *Segundo panel izquierdo:* células incubadas 4 días con 100 μ M de ganciclovir (GCV), con buena viabilidad celular. *Tercer panel:* células incubadas durante 4 días con **RAAd-(PFV/TK)_{fus}**. Células transducidas: fluorescencia verde. *Panel derecho:* células incubadas 4 días con el vector con 100 μ M **GCV**: actividad suicida de la proteína de fusión (IF x 200).

La incubación de células GH3 con **RAAd's** expresando los genes para el factor de necrosis tumoral- α (TNF α) o el ligando **FasL** (proteína de membrana de la familia del TNF), dos moléculas pro-apoptóticas cuyos receptores están presentes sobre las membranas de células lactotropas, aumentó la actividad apoptótica en dichas células (Lee y col., 2001b; Candolfi y col., 2006). La terapia génica pro-apoptótica puede constituir una alternativa posible para la terapia génica **TK**, en el tratamiento de ciertos tipos de tumores pituitarios como los prolactinomas.

Otro tipo de vectores usados para la transferencia génica en la glándula pituitaria corresponde a los **derivados de herpes virus simple de tipo 1 (HSV-1)**. Es virus ADN de doble banda con una cubierta derivada de la célula huésped. El virus tiene 38 genes que no son esenciales para el ciclo viral y pueden ser deletados, generando vectores recombinantes con suficiente espacio para clonar más de 1 transgén o secuencias reguladoras usadas como promotores específicos. El **HSV-1** puede establecer dos tipos de infecciones: ciclo lítico o, en algunas neuronas, estado de latencia. El ciclo lítico está caracterizado por efecto citopático, en parte debido a defectos en las proteínas de las células infectadas, codificadas mediante genes tempranos. Una de estas proteínas, la **PCI4**, es el principal factor implicado en la transición de una fase temprana inmediata a una fase temprana del ciclo lítico. En estadio de latencia, hay muy bajo nivel de transcripción de genes que resulta en niveles disminuidos de los ARNs virales de latencia asociados (Roizman, 1996). Hay dos tipos de vectores derivados de **HSV-1**: **amplificones** y **virus recombinantes**. En los últimos, el transgén es clonado dentro del genoma del HSV-1 (Wolfe y col., 1999). Hay dos tipos principales de éstos, denominados vectores derivados de HSV-1 de **primera y segunda generación**. Los vectores de primera generación tienen una mutación o delección en el gen esencial. El ejemplo relevante de estos vectores es el **tsK** que es el único tipo de vector derivado de **HSV** usado en la glándula pituitaria. Este vector es un mutante del **HSV-1**, sensible a la temperatura, con un punto de mutación en el gen **IE3** para impedir el proceso de replicación a 37° C, pero no a 31° C. El gen **IE3** fue elegido porque su producto proteico: el **PCI4** que es el principal activador *trans* de genes tempranos, y consecuentemente, la expresión viral temprana y tardía de genes está reducida cuando el **IE3** está inactivo. Los transgenes

son clonados en el locus de la timidina kinasa (TK) bajo el control del promotor activo **HSV-1 IE**. Los revertientes salvajes se originan con relativa frecuencia durante la preparación y contaminan las reservas virales con virus de replicación competentes. Una característica negativa de los vectores herpes derivados de la primera generación es su citotoxicidad que nace al expresar genes virales tóxicos (Tomasec y col., 1996). Los vectores recombinantes de segunda generación tienen delecciones en más de 1 gen, lo que los hace más citotóxicos y, por ello, no han sido usados en la glándula pituitaria.

El híbrido ADNc codifica una proteína quimérica correspondiente al **HSV1-TK** y fusionado a la proteína fluorescente verde (GFP) que retiene la actividad TK suicida (Paquin y col., 2001). El mismo fue clonado dentro de un vector adenoviral, denominado **RAd-(PFV/TK)_{fus}**, que transdujo con éxito en los adenomas pituitarios experimentales de ratas *in vivo*. Las células adenomatosas gonadotropas y somatotropas humanas fueron transducidas *in vitro* usando un vector derivado del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)-tipo 1 que estimuló el gen de la GFP bajo el promotor de la fosfoglicerato kinasa (Roche y col., 2004). Estudios iniciales con los vectores derivados de los adenovirus y herpes virus demostraron que los dos sistemas de vectores pueden ser usados eficientemente para transferir diferentes tipos de genes a las células en cultivos primarios, como las líneas tumorales corticotropa AtT₂₀ y la mammosomatotropa GH₃ de la pituitaria anterior normal de rata (Castro y col., 1997; Goya y col., 1998 y 2004). Es de remarcar, que las células neoplásicas adenohipofisarias fueron más susceptibles a la transducción mediada por vectores que las células normales.

Los **lentivirus** (fig. 20.7) son retrovirus complejos que tienen la capacidad de infectar y expresar sus genes en células mitóticas y post-mitóticas. El más conocido es el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

Luego de la extracción de las partículas infectantes y replicativas este vector derivado es transfectado. Los lentivirus tienen una ventaja adicional debido a su habilidad para transducir a células en división y en reposo (Blesch, 2004; Vogel y col., 2004), pero existe una desventaja que es la posibilidad de mutagénesis insercional, al hacerse una integración dentro del oncogén que puede llevar al cáncer (Li y col., 2002; Thomas y col., 2003). Con los lentivirus, el temor es que la recombinación lleve a la infección en pacientes con terapia HIV. Sin embargo, estos vectores han sido construidos de tal modo que la recombinación es una posibilidad despreciable.

Se han aplicado con éxito diferentes ensayos preclínicos que utilizan diferentes criterios de terapia génica para el tratamiento de enfermedades de la hipófisis anterior, pero todavía se requiere el desarrollo de una expresión más específica de transgenes terapéuticos y de vectores virales más eficientes (Seilicovich y col., 2005).

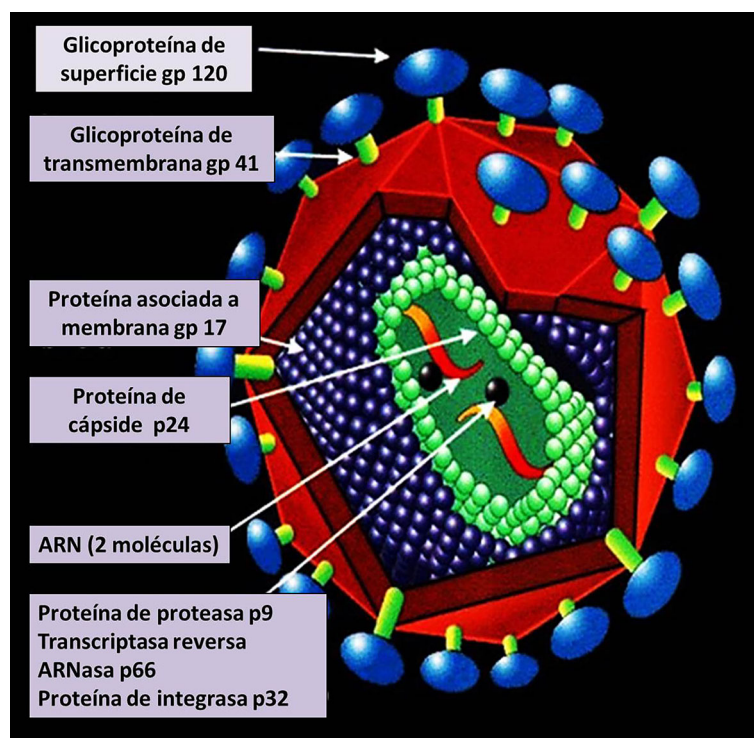


Fig. 20.7 Estructura del lentivirus (Slideplayer).

La terapia génica de los tumores pituitarios podría ser utilizada en combinación con las terapias convencionales, ya que aporta la posibilidad de aplicar receptores dirigidos que modifiquen las vías de transducción de señales y los mecanismos tumorigénicos.

20.2 Medicina regenerativa y genes de Yamanaka

La **Medicina regenerativa** ha surgido como una nueva disciplina impulsada por los nuevos conocimientos sobre las células madre y en su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos. Un aspecto fundamental es que se apoya en los mismos factores intra e intercelulares que el organismo emplea para su autorreparación. Se sustenta en la terapia celular, en la administración de elementos subcelulares y en la ingeniería de tejidos, conductas usadas para remplazar por células sanas a las células dañadas por diversos procesos en determinados tejidos. Integra todos los procedimientos destinados a la promoción de la regeneración celular (Polak, 2010).

Las células madre son células indiferenciadas que pueden autorrenovarse y diferenciarse en diversos tipos de células maduras. Este profundo potencial de las células madre se ha investigado a fondo por su importancia en la Medicina regenerativa y ha sentado las bases para las terapias basadas en células. La perspectiva que se abre es de reparar y restaurar órganos específicos, lesiones tisulares o enfermedades crónicas en las que el proceso regenerativo del cuerpo no es suficiente para curar (Mukherjee y col., 2021). En los últimos tiempos, aplicaciones clínicas de las células madre adultas han avanzado teniendo en cuenta las dificultades surgidas con la obtención y empleo de las células madre embrionarias. Se aplican beneficios enfermedades: cardiovasculares, arteriopatías, neuropatías degenerativas, diabetes mellitus, óseas y de la córnea, entre otras. Se ha planteado el nuevo concepto de ingeniería de tejidos *in vivo*, que comprende la generación y reconstrucción de tejidos u órganos. Para alcanzar estos objetivos se utiliza una matriz biodegradable que forma una estructura porosa, trabecular o reticular que se prepara *in vitro* y se coloca en el tejido dañado para que se promueva, en un microambiente apropiado, el crecimiento y propagación *in situ* de las células residentes circundantes, o bien de células madre que pueden implantarse en ese sitio para lograr la regeneración hística. En contraposición a estos procedimientos *in vivo* tenemos la obtención de tejidos *in vitro* calificada como ingeniería de tejidos *in vitro* y con un criterio más amplio como ingeniería de tejidos y órganos (Dong y col., 2004; Muschler y col., 2004).

En la **fig. 20.8** se presentan las nuevas tecnologías en Medicina regenerativa.



Fig. 20.8 Nuevas tecnologías en Medicina regenerativa (WordPress.com).

Shinya Yamanaka hizo historia en 2006 al descubrir que las células adultas de ratón pueden reprogramarse y convertirse en células madre con características de células embrionarias inmaduras. Los resultados replantearon la idea de que la diferenciación de las células es un camino solo de ida y proporcionaron una nueva herramienta de estudio biomédico: las células madre pluripotentes inducidas. Yamanaka demostró que cuando se induce la expresión de cuatro genes: **Oct4**, **Klf4**, **Sox2**, **Myc** en las células adultas, éstas son reprogramadas y adquieren un estado pluripotencial con capacidad para diferenciarse en múltiples tipos de células. A nivel molecular es como si las células retrocedieran en el tiempo (**fig. 20.9**).

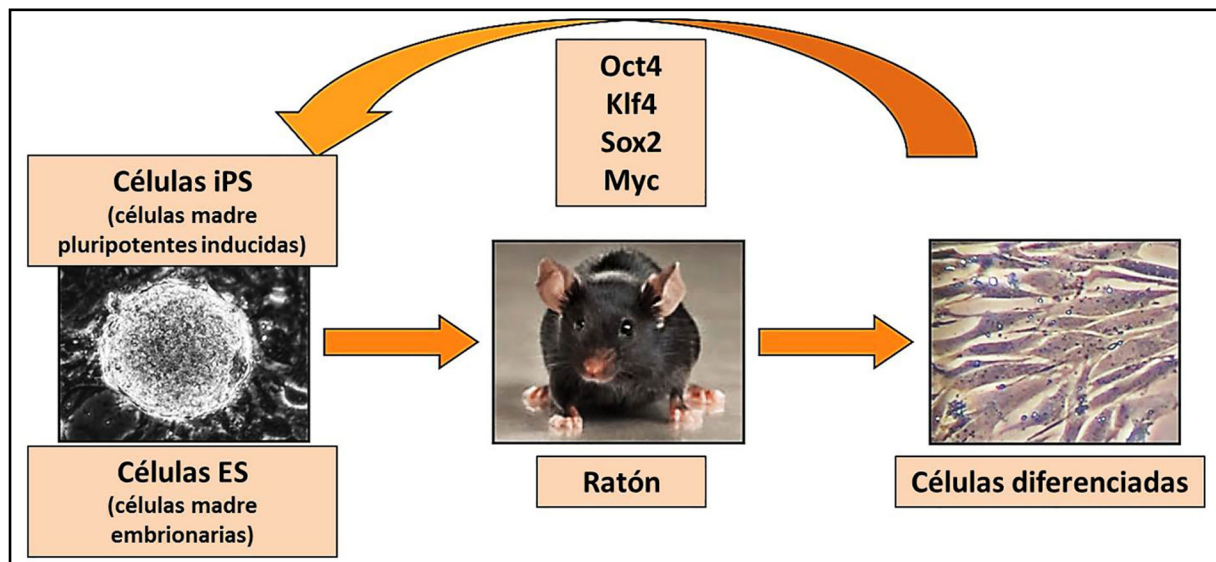


Fig. 20.9 Células iPS, células madre embrionarias (ES) y células diferenciadas (WordPress.com).

Desde su descubrimiento las **células madre pluripotentes inducidas (iPS)** se han utilizado para modelar múltiples enfermedades. La estrategia habitual es la siguiente: se toman células adultas de pacientes, las reprograman y las diferencian el tipo celular afectado por la enfermedad, donde investigan sus mecanismos moleculares. Sin embargo, las aplicaciones de los factores de Yamanaka no se limitan a generar células madre. Un reciente estudio acaba de demostrar que cuando se expresan durante un período de tiempo reducido también pueden rejuvenecer las células (**figs. 20.10-20.11**).

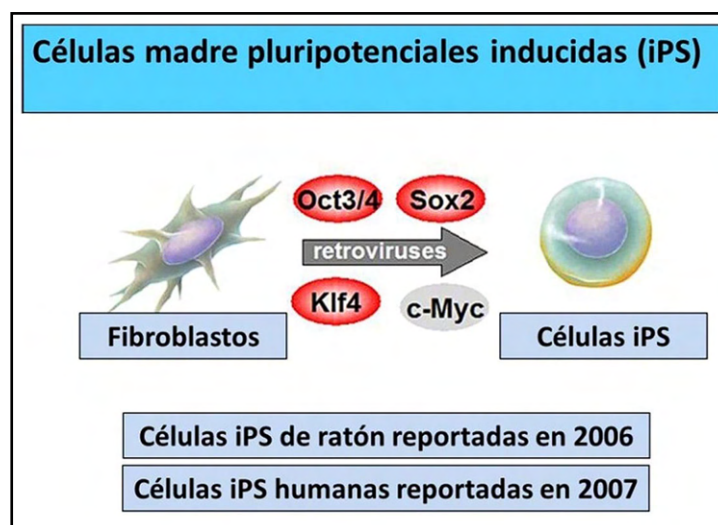


Fig. 20.10 Inducción de células iPS (Yamanaka).

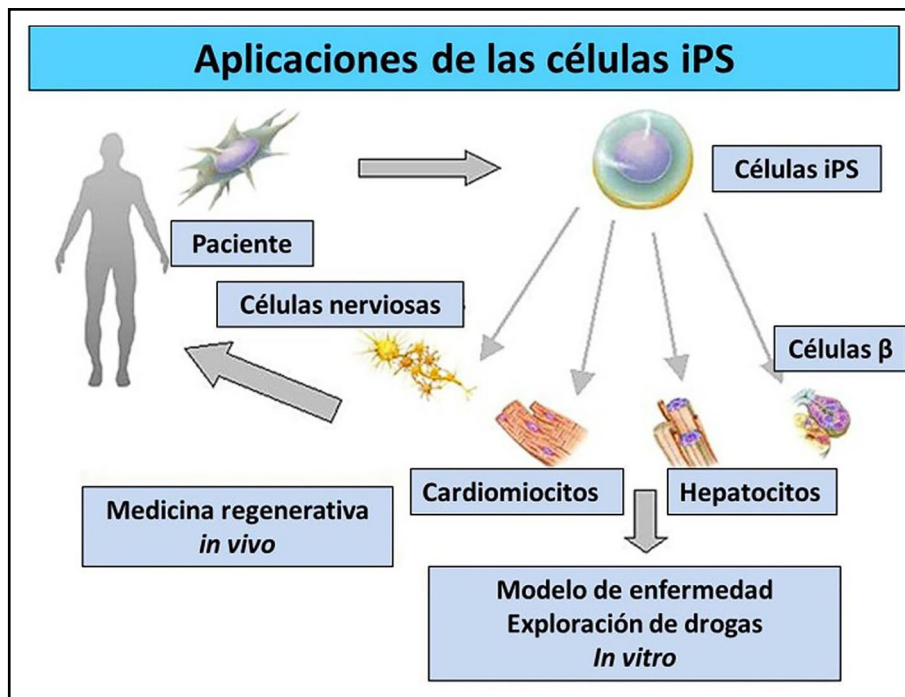


Fig. 20.11 Aplicaciones de las células iPS (Yamanaka).

Para determinar si los factores de Yamanaka pueden rejuvenecer las células adultas humanas, los investigadores utilizaron una combinación de 6 ARNs mensajeros, cuatro de ellos con las instrucciones de los 4 factores de Yamanaka (**oct4**, **sox2**, **klf4** y **c-myc**) y dos adicionales (**lin28** y **nanog**). Se observó que tras tratar células adultas humanas con los factores se inducían numerosos cambios asociados a un rejuvenecimiento celular. Se detectó una mejora significativa en los diferentes marcadores moleculares del envejecimiento, como las marcas epigenéticas, la respuesta a los nutrientes o la actividad mitocondrial. Además, las células no tratadas mostraron una mayor expresión en genes relacionados con el envejecimiento.

Takahashi y Yamanaka (2006) demostraron que la transferencia de cuatro genes maestros (**oct4**, **sox2**, **klf4**, **c-myc**: genes OSKM), a fibroblastos de ratón adulto fueron capaces de reprogramarlos, llevando las células a una etapa de pluripotencial en la que se comportarían como células madre embrionarias. Así nació la **reprogramación celular**, un avance que allanó el camino para la posterior implementación del **rejuvenecimiento celular** cuyo primer estudio fue publicado por Lapasset y col. (2011).

En los últimos años, la generación de iPSC a partir de células somáticas humanas ha demostrado ser uno de los descubrimientos más útiles en la Medicina regenerativa. Las iPSC se están convirtiendo en una herramienta invaluable para estudiar la patología de diferentes enfermedades y para el cribado de drogas. La mayoría de las estrategias para la generación de iPSC se basan en la entrega de genes a través de vectores retrovirales o lentivirales, que se integran en el genoma de la célula del huésped, lo que provoca un riesgo notable de mutagénesis por inserción y transformación oncogénica. Para evitar tales riesgos, se han logrado avances significativos con estrategias de reprogramación no integradoras. Por otro lado, aunque se han empleado muchos tipos diferentes de células somáticas para generar iPSC, todavía no hay consenso sobre el tipo ideal de célula que se va a reprogramar (Revilla y col., 2016).

Para reprogramar los fibroblastos de donantes muy viejos, se agregaron los genes de pluripotencia **nanog** y **lin28** al cóctel de reprogramación OSKM. Esta combinación de seis factores reprogramó de manera eficiente los fibroblastos de donantes viejos en células madre inducidas pluripotentes típicas (iPSC). Estas células mostraron telómeros alargados y un metabolismo mitocondrial juvenil. Las iPSC se diferenciaron de nuevo en fibroblastos, cuyo perfil transcripcional, metabolismo mitocondrial, niveles de estrés oxidativo, longitud de los telómeros y potencial eran indistinguibles de los fibroblastos de sus

homólogos jóvenes. Los datos revelaron que las células habían sido rejuvenecidas (**fig. 9.1**) (Hashizume y col., 2015; Goya y col., 2018).

Se comunicaron cambios morfológicos inducidos por la acción del gen **OSKM** a largo plazo en células perivasculares del cordón umbilical humano (HUCPVC) (Chiavellini y col., 2021).

Es posible rejuvenecer las células adultas sin comprometer su identidad celular. Este nuevo conocimiento plantea interesantes aplicaciones en el ámbito de la Medicina. Por ejemplo, podría utilizarse para desarrollar estrategias terapéuticas destinadas a frenar o revertir el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad.

La Medicina regenerativa se basa en el conocimiento de la biología y la fisiología de las células madre, de las fracciones estromales y de las pequeñas proteínas: citoquinas, quimioquinas, factores de crecimiento y micro ARNs.

Se trata de una auténtica revolución médica ya que es una medicina personalizada.

La primera técnica que se usó en medicina regenerativa es el *plasma rico en plaquetas* (1970). Otro aspecto importante de la medicina regenerativa es el uso de la llamada *terapia celular con células madre*. Se han utilizado células madre mesenquimáticas adultas, procedentes del tejido adiposo o de la médula ósea. A ellas se ha agregado el uso de: *nanoseñalización proteica, terapia génica e ingeniería tisular*.

Los cambios en los patrones de metilación del ADN a lo largo del tiempo forman la base del envejecimiento de los relojes, pero se desconoce si las personas mayores retienen la información necesaria para restaurar estos patrones y, de ser así, si esto podría mejorar la función de los tejidos. Con el tiempo, el sistema nervioso central (SNC) pierde función y capacidad regenerativa. Usando el ojo como tejido modelo del SNC, se demostró que la expresión ectópica de los genes **Oct4**, **Sox2** y **Klf4** (OSK) en las células ganglionares de la retina de ratón restauraron los patrones de metilación y transcriptomas del ADN juvenil, promovieron la regeneración de axones después de una lesión e invirtieron la pérdida de visión en un modelo de ratón con glaucoma y en ratones envejecidos. Los efectos beneficiosos de la reprogramación inducida por **OSK** en la regeneración de axones y la visión requieren las desmetilasas de ADN **TET1** y **TET2**. Los datos indicaron que los tejidos de los mamíferos conservan un registro de información epigenética juvenil, codificada en parte por la metilación del ADN, a la que se puede acceder para mejorar la función de los tejidos y promover la regeneración *in vivo* (Lu y col., 2020).

El rejuvenecimiento biológico mediante la reprogramación celular parcial es una vía emergente de investigación. En este contexto, los sistemas de expresión génica de pluripotencia regulable son los más utilizados en la actualidad. Se construyó un adenovector bidireccional regulable que expresa la proteína fluorescente verde humanizada (**GFP**) y los genes **oct4**, **sox2**, **klf4** y **c-myc** (**OSKM**). Dichos genes están organizados como un tándem bicistrónico (tándem hSTEMCCA), que está bajo el control de un promotor bidireccional Tet-Off que también controla la expresión del gen **GFP**. Por separado, un casete constitutivo expresa la proteína reguladora **tTA**. La fluorescencia de **GFP** en cultivos de fibroblastos de rata transducidos con vector disminuyó con la dosis de doxiciclina (DOX) presente en el medio. El análisis inmunocitoquímico de las células transducidas confirmó la expresión de los 4 genes Yamanaka. Además, 3 días después de la inyección del vector en el hipotálamo de ratas, se observó un nivel significativo de fluorescencia en la región. La adición de 2 mg/ml de DOX al agua potable redujo la expresión de **GFP**. Este adenovector constituye una herramienta prometedora para implementar la reprogramación celular parcial no integrativa (Lehmann M et al., 2019).

Referencias

- Aoki T et al. Inhibition of autocrine fibroblast growth factor signaling by the adenovirus-mediated expression of an antisense transgene or a dominant negative receptor in human glioma cells in vitro. *Int J Oncol* 21(3):629-636, 2002.
- Bakhtiar A et al. Intracellular delivery of potencial therapeutic genes: prospects in cáncer gene therapy. *Curr Gene Ther* 14(4):247-257, 2014.
- Balakrishnan B, Jayandharan GR. Basic biology of adeno-associated virus (AAV) vectors used in gene therapy. *Curr Gene Ther* 14(2):86-100, 2014.
- Bergelson JM et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* 275(5304):1320-23, 1997.
- Blesch A. Lentiviral and MLV based retroviral vectors for ex vivo and in vivo gene transfer. *Methods* 33(2):164-172, 2004.
- Bolognani F et al. In vitro and in vivo herpetic vector-mediated gene transfer in the pituitary gland: impact on hormone secretion. *Eur J Endocrinol* 145(4):497-503, 2001.
- Burek JD. Pathology of aging rats. In. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1978.
- Candolfi M et al. Adenoviral vectors encoding tumor necrosis factor-alpha and FasL induce apoptosis of normal and tumoral anterior pituitary cells. *J Endocrinol* 189(3):681-690, 2006.
- Carri NG et al. Studies on in vivo gene transfer in pituitary tumors using herpes-derived and adenoviral vectors. *Brain Res Bull* 65(1):17-22, 2005.
- Castro MG et al. Adenoviral vector-mediated gene therapy for gliomas: coming of age. *Expert Opin Biol Ther* 14(9):1241-57, 2014.
- Castro MG et al. Expression of transgenes in normal and neoplastic anterior pituitary cells using recombinant adenoviruses: long term expression, cell cycle dependency, and effects on hormone secretion. *Endocrinology* 138(5):2184-94, 1997.
- Castro MG, Southgate T, Lowenstein PR. Molecular therapy in a model of neuroendocrine disease: developing clinical gene therapy for pituitary tumours. *Trends Endocrinol Metab* 12(2):58-64, 2001.
- Chiavellini P et al. Envejecimiento y rejuvenecimiento: un modelo de epigenoma modular. *Ageing (Albany NY)* 13(4): 4734-4746, 2021.
- Cónsole GM et al. Insulin-like growth factor-I gene therapy reverses morphologic changes and reduces hyperprolactinemia in experimental rat prolactinomas. *Mol Cancer* 7:13-18, 2008.
- Cónsole GM et al. Effect of insulin-like growth factor-I gene therapy on somatotrophic axis in experimental prolactinomas. *Cells Tissues Organs* 190(1):20-26, 2009.
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 81(3):935-939, 1984.
- Davis JR et al. Adenovirus-mediated gene transfer in the ovine pituitary gland is associated with hypophysitis. *J Endocrinol* 173(2):265-271, 2002.
- Davis JR et al. Cell type-specific adenoviral transgene expression in the intact ovine pituitary gland after stereotaxic delivery: an in vivo system for long-term multiple parameter evaluation of human pituitary gene therapy. *Endocrinology* 142(2):795-801, 2001.
- Ding W, Li Y, Hou X, Li T. Bleomycin A6-loaded anionic liposomes with in situ gel as a new antitumoral drug delivery system. *Drug Deliv* 20:1-7, 2014.
- Dong WR et al. In vivo tissue engineering: A new concept. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 24:969-74, 2004.
- Ezzat S et al. The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer* 101(3):613-619, 2004.
- Fei LN, Wang QZ, Xu RA. Combinatorial RNAi and its application in cancer gene therapy. *Yao Xue Xue Bao* 47(5):573-579, 2012.

- Freese A et al. Transfection of human lactotroph adenoma cells with an adenovirus vector expressing tyrosine hydroxylase decreases prolactin release. *J Clin Endocrinol Metab* 81(6):2401-04, 1996.
- Fukuoka H, Takahashi Y. The role of genetic and epigenetic changes in pituitary tumorigenesis. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 54(12):943-957, 2014.
- Geddes BJ et al. Persistent transgene expression in the hypothalamus following stereotaxic delivery of a recombinant adenovirus: suppression of the immune response with cyclosporin. *Endocrinology* 137(11):5166-69, 1996.
- Ghanbari JA et al. A preliminary step of a novel strategy in suicide gene therapy with lentiviral vector. *Adv Biomed Res* 3:7, 2014.
- Gilboa E. Retroviral gene transfer: applications to human therapy. *Adv Exp Med Biol* 241:29-33, 1988.
- Goins WF et al. Engineering HSV-1 vectors for gene therapy. *Methods Mol Biol* 1144:63-79, 2014.
- Gossen M, Bujard H. Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. *Proc Natl Acad Sci USA* 89(12):5547-51, 1992.
- Goya RG et al. Use of recombinant herpes simplex virus type I vectors for gene transfer into tumour and normal anterior pituitary cells. *Mol Cell Endocrinol* 139(1-2):199-207, 1998.
- Goya RG et al. Rejuvenecimiento por reprogramación celular: un nuevo horizonte en gerontología. *Stem Cell Research & Therapy* 9:349, 2018.
- Goya RG et al. Potential of gene therapy for treatment of pituitary tumors. *Curr Gene Ther* 4(1):79-87, 2004.
- Halper J, Parnel PG, Carter BJ, Ren P, Scheithauer BW. Presence of growth factors in human pituitary. *Lab Invest* 66(5):639-645, 1992.
- Han L et al. Characterization of the mechanism of inhibin α -subunit gene in mouse anterior pituitary cells by RNA interference. *PLoS One* 8(10): E74596, 2013.
- Hashizume O et al. La regulación epigenética de los genes GCAT y SHMT2 con codificación nuclear confiere defectos de la respiración mitocondrial asociados con la edad humana. *Sci Rep* 5:10, 2015.
- Hidaka C et al. CAR-dependent and CAR-independent pathways of adenovirus vector-mediated gene transfer and expression in human fibroblasts. *J Clin Invest* 103(4):579-587, 1999.
- Hitt M et al. Techniques for human adenovirus vector construction and characterization. *Meth Mol Gen* 7:13-30, 1995.
- Hoganson DK et al. Comparison of the effects of three different toxin genes and their levels of expression on cell growth and bystander effect in lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 56(6):1315-23, 1996.
- Houben H, Denef C. Bioactive peptides in anterior pituitary cells. *Peptides* 1994; 15(3):547-582.
- Hu N et al. Heterozygous Rb-1 delta 20/+mice are predisposed to tumors of the pituitary gland with a nearly complete penetrance. *Oncogene* 9(4):1021-27, 1994.
- Hubert CG et al. Genome-wide RNAi screens in human brain tumor isolates reveal a novel viability requirement for PHF5A. *Genes Dev* 27(9):1032-45, 2013.
- Ideguchi M et al. Local adenovirus-mediated CTLA4-immunoglobulin expression suppresses the immune responses to adenovirus vectors in the brain. *Neuroscience* 95(1):217-226, 2000.
- Ilan Y et al. Oral tolerization to adenoviral antigens permits long-term gene expression using recombinant adenoviral vectors. *J Clin Invest* 99(5):1098-1106, 1997.
- Jain KK. Textbook of gene therapy. In: Hogrefe and Huber publishers, Seattle, 1998.
- Kobayashi E et al. Retroviral vectors for homologous recombination provide efficient cloning and expression in mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 444(3):319-324, 2014.
- Kohn DB et al. Retroviral-mediated gene transfers into mammalian cells. *Blood Cells* 13(1-2):285-298, 1987.
- Lee EJ et al. Targeted expression of toxic genes directed by pituitary hormone promoters: a potential strategy for adenovirus-mediated gene therapy of pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 84(2):786-794, 1999a.
- Lee EJ, Duan WR, Jakacka M, Gehm BD, Jameson JL. Dominant negative ER induces apoptosis in GH pituitary lactotrope cells and inhibits tumor growth in nude mice. *Endocrinology* 142(9):3756-63, 2001a.
- Lee EJ, Jameson JL. Cell-specific Cre-mediated activation of the diphtheria toxin gene in pituitary tumor cells: potential for cytotoxic gene therapy. *Hum Gene Ther* 13(4):533-542, 2002.

- Lee EJ et al. Adenovirus-mediated targeted expression of toxic genes to adrenocorticotropin-producing pituitary tumors using the proopiomelanocortin promoter. *J Clin Endocrinol Metab* 86(7):3400-09, 2001b.
- Lee EJ, Thimmapaya B, Jameson JL. Stereotactic injection of adenoviral vectors that target gene expression to specific pituitary cell types: implications for gene therapy. *Neurosurgery* 46(6):1461-68, 2000.
- Lehmann M et al. Adenovector regulable que alberga los genes GFP y Yamanaka para implementar la medicina regenerativa en el cerebro. *Gene Ther* 26(10-11):432-440, 2019.
- Li Z et al. Murine leukemia induced by retroviral gene marking. *Science* 296(5567):497, 2002.
- Littley MD et al. Hypopituitarism following external radiotherapy for pituitary tumours in adults. *Q J Med* 70(262):145-160, 1989.
- Lu Y et al. Reprogramación para recuperar información epigenética juvenil y restaurar la visión. *Nature* 588: 124-129, 2020.
- Mahoney DJ, Stojdl DF. Functional genomic screening to enhance oncolytic virotherapy. *Br J Cancer* 108(2):245-249, 2013.
- Miller AD. Retroviral vector production. *Curr Protoc Hum Genet* 80: Unit 12.5, 2014.
- Muschler GF et al. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J Bone Joint Surg Am* 86-A:1541-58, 2004.
- Mukherjee S et al. Tendencias recientes en terapias basadas en células madre y aplicaciones de inteligencia artificial en medicina regenerativa. *Células madre del mundo J* 13(6):521-541, 2021.
- Nasri M et al. Production, purification and titration of a lentivirus-based vector for gene delivery purposes. *Cytotechnology* 66(6):1031-38, 2014.
- O'Reilly MS et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 88(2):277-285, 1997.
- Paquin A, Jaalouk DE, Galipeau J. Retrovector encoding a green fluorescent protein-herpes simplex virus thymidine kinase fusion protein serves as a versatile suicide/reporter for cell and gene therapy applications. *Hum Gene Ther* 12(1):13-23, 2001.
- Parks RJ et al. A helper-dependent adenovirus vector system: removal of helper virus by Cre-mediated excision of the viral packaging signal. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(24):13565-70, 1996.
- Parks RJ, Graham FL. A helper-dependent system for adenovirus vector production helps define a lower limit for efficient DNA packaging. *J Virol* 71(4):3293-98, 1997.
- Pazarentzos E, Mazarakis ND. Anticancer gen transfers for cancer gene therapy. *Adv Exp Med Biol* 818:255-280, 2014.
- Polak DJ. Medicina regenerativa. Oportunidades y desafíos: una breve descripción. *Interfaz JR Soc (Supl 6)*: S777-81, 2010.
- Prel A, Sensebe L, Pages JC. Influence of untranslated regions on retroviral mRNA transfer and expression. *BMC Biotechnol* 13:35, 2013.
- Revilla A et al. Avances actuales en la generación de células iPS humanas: implicancias en la Medicina regenerativa basada en células. *J Tissue Eng Regen Med* 10(11):893-907, 2016.
- Riley DJ, Nikitin AY, Lee WH. Adenovirus-mediated retinoblastoma gene therapy suppresses spontaneous pituitary melanotroph tumors in Rb^{+/-} mice. *Nat Med* 2(12):1316-21, 1996.
- Roche C et al. Lentiviral vectors efficiently transduce human gonadotroph and somatotroph adenomas in vitro. Targeted expression of transgene by pituitary hormone promoters. *J Endocrinol* 183(1):217-233, 2004.
- Rodríguez S, Castro M, Brown O, Goya R, Cónsole G. Gene therapy of the treatment of pituitary tumors. *Expert Rev Endocrinol Metab* 4(4):359-370, 2009.
- Roizman B. The function of herpes simplex virus genes: a primer for genetic engineering of novel vectors. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(21):11307-12, 1996.
- Sajeesh S et al. Long dsRNA-mediated RNA interference and immunostimulation: a targeted delivery approach using polyethyleneimine based nano-carriers. *Mol Pharm* 11(3):872-884, 2014.
- Segura MM et al. New developments in lentiviral vector design, production and purification. *Expert Opin Biol Ther* 13(7):987-1011, 2013.

- Seilicovich A et al. Gene therapy for pituitary tumors. *Curr Gene Ther* 5(6):559-572, 2005.
- Short MP et al. Gene delivery to glioma cells in rat brain by grafting of a retrovirus packaging cell line. *J Neurosci Res* 27(3):427-439, 1990.
- Sierra-Delgado JA et al. Respuesta inmune y terapia génica con vectores virales adenoasociados. *Medicina (B Aires)* 79 (6): 493-501, 2019.
- Smith-Arica JR et al. Switching on and off transgene expression within lactotrophic cells in the anterior pituitary gland in vivo. *Endocrinology* 142(6):2521-32, 2001.
- Southgate TD et al. Long-term transgene expression within the anterior pituitary gland in situ: impact on circulating hormone levels, cellular and antibody-mediated immune responses. *Endocrinology* 142(1):464-476, 2001.
- Southgate TD et al. Transcriptional targeting to anterior pituitary lactotrophic cells using recombinant adenovirus vectors in vitro and in vivo in normal and estrogen/sulpiride-induced hyperplastic anterior pituitaries. *Endocrinology* 141(9):3493-3505, 2000.
- Stovall DB et al. DNA vector-based RNA interference to study gene function in cancer. *J Vis Exp* 4(64): E4129, 2012.
- Takahashi K, Yamanaka S. Inducción de células madre pluripotentes de cultivos de fibroblastos adultos y embrionarios de ratón mediante factores definidos. *Cell* 126 : 663-676, 2006.
- Tang DC, De Vit M, Johnston SA. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature* 356(6365):152-154, 1992.
- Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* 4(5):346-358, 2003.
- Tomasec P et al. Herpes simplex virus temperature-sensitive mutant tsK as a vector for neuronal gene transfer. In: *Protocols for gene transfer in neuroscience: Towards gene therapy of neurological disorders*. In: Lowenstein PR, Enquist LW, eds. Wiley, Chichester, UK, 1996:169-186.
- Vogel R et al. A single lentivirus vector mediates doxycycline-regulated expression of transgenes in the brain. *Hum Gene Ther* 15(2):157-165, 2004.
- Webster J et al. Growth factors and pituitary tumors. *Trends Endocrinol Metab* 1(2):95-98, 1989.
- Wei F et al. Dissecting the roles of E1A and E1B in adenoviral replication and RCAd-enhanced RDAd transduction efficacy on tumor cells. *Cancer Biol Ther* 15(10):1358-66, 2014.
- Williams JC et al. Regulated adenovirus-mediated delivery of tyrosine hydroxylase suppresses growth of estrogen-induced pituitary prolactinomas. *Mol Ther* 4(6):593-602, 2001.
- Windeatt S et al. Adenovirus-mediated herpes simplex virus type-1 thymidine kinase gene therapy suppresses oestrogen-induced pituitary prolactinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 85(3):1296-1305, 2000.
- Wolfe D et al. Engineering herpes simplex virus vectors for CNS applications. *Exp Neurol* 159(1):34-46, 1999.
- Yan R et al. Oncogene dependency and the potential of targeted RNAi-based anti-cancer therapy. *Biochem J* 461(1): 1-13, 2014.
- Yang Y et al. Cellular immunity to viral antigens limits E1-deleted adenoviruses for gene therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(10):4407-11, 1994
- Zahn P et al. DNA nanostructure-based imaging probes and drug carriers. *Chem Med Chem* 9(9):2013-20, 2014.
- Zhang Q et al. DNA origami as in vivo drug delivery vehicle for cancer therapy. *ACS Nano* 8(7):6633-43, 2014.
- Zong T et al. Synergistic dual-ligand Doxorubicin liposomes improve targeting and therapeutic efficacy of brain glioma in animals. *Mol Pharm* 11(7):2346-57, 2014.

La presente obra de **Neuroendocrinología Hipofisaria** integra aspectos moleculares, embriológicos, histopatológicos, inmunológicos, genéticos, epigenéticos, clínicos y terapéuticos de las endocrinopatías hipofisarias. Para ello, se han reunido trabajos de embriólogos, patólogos, inmunólogos, genetistas y endocrinólogos involucrados en su diagnóstico y tratamiento.

La autora se ha desempeñado en diversas especialidades: Patología, Embriología, Inmunología e Histología. Ha sido docente por más de cinco décadas alcanzando el cargo de Profesora Titular, dedicación exclusiva en la Cátedra de Citología, Histología y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP. Ha desarrollado actividades de Investigación en el área de Neuroendocrinología Hipofisaria en la UNLP y en la Comisión de Investigaciones Científicas Bs. As. (CICBA). En la actualidad es Profesora Extraordinaria Categoría Consulta de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNLP.

La presente obra está dirigida a estudiantes y profesionales de la Salud, que deseen actualizar los aspectos moleculares, embriológicos, histopatológicos, inmunológicos, genéticos, clínicos y terapéuticos de las endocrinopatías hipofisarias.

Gloria M. Cónsole-Avegliano

Médica. Doctora en Medicina. Especialista en Anatomía Patológica.

Médica Patóloga en el Hospital San Juan de Dios y en el Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata.

Profesora Titular de la Cátedra B de Citología, Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

Investigadora Independiente de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICBA).

Docente-Investigadora (categoría I) del Programa de Incentivos de la UNLP.

Se ha dedicado durante cinco décadas a la enseñanza de la Histología-Patología-Embriología.

Su interés por la investigación se centró en el estudio de la glándula hipófisis, desarrollando numerosos proyectos colaborativos que analizaron diferentes condiciones experimentales.

