

150

112822



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición

Salvador Zubirán

Hiperparatiroidismo primario. En busca de un
método confiable para establecer el diagnóstico
diferencial entre adenoma e hiperplasia.

TESIS DE POSGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA:

MIGUEL FRANCISCO HERRERA HERNANDEZ

Tutor: Dr. Luis Llorente Peters

Co-tutores: Dra. Florencia Vargas Vorackova

Dr. Gerardo Gamba



INCMNSZ MEXICO, D. F.

2001

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO.
EN BUSCA DE UN METODO CONFIABLE PARA ESTABLECER EL
DIAGNOSTICO DIFERENCIAL ENTRE ADENOMA E HIPERPLASIA.**

Alumno: Dr. Miguel F. Herrera
Tutor: Dr. Luis Llorente
Cotutores: Dra. Florencia Vargas
Dr. Gerardo Gamba

A mi familia.

	Pág.
Resumen	3
Abstract	6
Antecedentes	9
Hipótesis nula.....	12
Hipótesis alternativa	12
Objetivo general	13
Objetivos primarios	13
Objetivo secundario	13
Material y métodos	14
Grupo de estudio	15
Objetivos primarios	17
Objetivo secundario	20
Resultados	21
Discusión	24
Conclusiones	36
Referencias	37
Tablas	42
Figuras	55

Resumen.

Antecedentes. El diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia paratiroidea generalmente se establece de acuerdo a la apariencia macroscópica de las glándulas, sin embargo, se han empleado algunos criterios histológicos para realizar dicha diferenciación. Recientemente se han evaluado otros métodos tales como el contenido nuclear de ácido desoxirribonucleico y la expresión de diversos genes.

Objetivo. Evaluar la capacidad diagnóstica de diversos elementos tales como el juicio quirúrgico, el estudio histopatológico, el contenido nuclear de DNA y la expresión de diversos genes, para diferenciar adenoma de hiperplasia paratiroidea.

Pacientes y métodos. Se incluyeron 40 pacientes a los que se les practicó exploración bilateral de cuello por hiperparatiroidismo primario. Desde el punto de vista quirúrgico se estableció el diagnóstico de adenoma si existía crecimiento uniglandular y de hiperplasia, cuando más de una glándula estaba aumentada de tamaño. La decisión de extirpar una o más glándulas se basó en sus características macroscópicas. El diagnóstico histológico se estableció con base en la presencia de cápsula, adipositos, lobulación, un ribete de tejido normal, el número de tipos celulares y las características de los vasos sanguíneos. El análisis del contenido nuclear de DNA, se realizó mediante citometría de flujo y

para la búsqueda de la expresión de bcl-2, bax, fas, gld, c-myc, c-fos, c-jun, ciclofilina, P53 y huCaR, se empleó un análisis semicuantitativo por el método de la reacción de polimerasa en cadena.

Para evaluar la certeza del juicio clínico y el diagnóstico histopatológico los pacientes fueron vigilados durante los 3 años siguientes a la intervención, practicándose determinaciones anuales de Ca, P, y PTH. Se tomó como estándar de oro la evolución postoperatoria. Para evaluar la reproducibilidad del diagnóstico histológico, se practicó un análisis de concordancia entre 3 patólogos que analizaron en forma independiente las laminillas. Para el análisis del contenido nuclear de DNA se compararon los patrones de los pacientes con adenoma e hiperplasia y finalmente se evaluó la frecuencia y magnitud de expresión de los diversos oncogenes en adenomas e hiperplasia.

Resultados. La distribución por sexo mostró 33 mujeres y 7 hombres con una edad promedio de 55 ± 14 años. En todos los casos, hubo confirmación bioquímica de la enfermedad. Las cifras promedio de calcio al momento del diagnóstico fueron de 12.9 ± 1.2 mg/dl (normal de 8.8 a 11.1) y las de fósforo de 2.7 ± 0.7 mg/dl (normal de 2.2 a 4.5). En 21 pacientes tanto el diagnóstico quirúrgico como el histológico fue de adenoma; en 5, ambos diagnósticos coincidieron en la existencia de hiperplasia y en 11, el diagnóstico quirúrgico fue de adenoma y el histológico de hiperplasia. No existió recurrencia de la enfermedad en ninguno de los pacientes independientemente de sus

características histológicas. El análisis del contenido nuclear de DNA mostró un patrón diploide en la totalidad de las muestras hiperplásicas. Siete de los 10 adenomas mostraron un patrón diploide, 2 tetraploide y 1 aneuploide. El análisis genético hizo evidente que el tejido paratiroideo normal expresa huCaR, c-fos, p53 y bax. El análisis comparativo mostró una tendencia a la mayor expresión de bcl-2 y c-jun en el tejido hiperplásico y de p53 en los adenomas, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. Hubo discordancia en la apreciación diagnóstica entre los 3 patólogos.

Conclusiones. La apreciación macroscópica de las glándulas paratiroideas demostró ser más sensible que el análisis histológico para establecer el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia. El análisis del contenido nuclear de DNA hizo evidente que tanto los adenomas como las glándulas hiperplásicas tienen con mayor frecuencia un patrón diploide. La expresión de diversos genes fue variable en las glándulas normales, los adenomas y las glándulas hiperplásicas; sin embargo, estas diferencias no permiten establecer el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia. El análisis de muestras seleccionadas de tejido paratiroideo por 3 patólogos expertos, mostró concordancia variable.

Abstract.

Background. Diagnosis of parathyroid adenoma or hyperplasia is generally made at surgery by gross appearance of parathyroid glands. Some histological criteria have also shown to be useful, and the recent discovery of several molecular markers has put into perspective their potential use for the differential diagnosis.

Aim. To evaluate the accuracy of several markers in the differential diagnosis between parathyroid adenoma and hyperplasia. The included markers were: the surgical judgement, the histologic exam, the nuclear content of DNA, and the expression of 10 different genes.

Patients and Methods. A total of 40 patients with biochemical diagnosis of primary hyperparathyroidism who underwent bilateral surgical neck exploration were prospectively evaluated. Surgical diagnosis of adenoma was established when only one abnormal gland was found. Hyperplasia was considered if more than two glands were enlarged. Resection of one or more glands was determined by the surgical judgment. All specimens were histologically evaluated and the diagnosis of adenoma or hyperplasia was established based on the presence of capsule, adipocytes, lobulation, a rim of normal tissue, the number of cellular types and blood vessel characteristics. The analysis of the nuclear DNA content was made by flow cytometry using a FACScan. A semiquantitative analysis of the

expression of bcl-2, bax, fas, gld, c-myc, c-fos, c-jun, ciclofilin, P53 and huCaR was performed by polymerase chain reaction.

To assess the accuracy of the surgical judgment and the histologic exam, patients were followed with yearly measurements of Ca, P, and PTH, for a minimum of 2 years. The gold standard for the diagnosis was the outcome. To evaluate the reproducibility of the histological diagnosis a concordance analysis between three different pathologists who evaluated independently the histological specimens was conducted. For the nuclear DNA content analysis, the ploidy patterns of patients with adenoma and hyperplasia were comparatively analyzed. Finally, differences in the frequency and the amount of the expression of each gene were analyzed in both groups.

Results. From the total group, 33 patients were female and 7 male with a mean age of 55 ± 14 years. All patients had biochemical confirmation of the disease. Mean calcium at the time of diagnosis was 12.9 ± 1.2 mg/dl (normal 8.8 - 11.1) and mean phosphorus was 2.7 ± 0.7 mg/dl (normal 2.2 - 4.5). In 21 patients both surgical and histologic diagnosis were adenoma; in 5 both were consistent with hyperplasia and in 11, surgical diagnosis was adenoma and histological diagnosis was hyperplasia. All discordant patients were treated by uniglandular resection and there were no cases of persistent/recurrent hyperparathyroidism in the long-term. In the ploidy analysis, all hyperplastic glands were diploid. Seven adenomas were diploid, 2 were tetraploid and 1 was aneuploid. The gene analysis showed that

normal parathyroid tissue expresses huCa, c-fos, p53 y bax. The comparative analysis between adenoma and hyperplasia showed higher expression of bcl-2 and c-jun in the hiperplasic tissue, and higher expresion of p53 in adenomas. However, differences did not reach statistic significance. There was significant discrepancy in the diagnosis established by the three patologists.

Conclusions. Gross appearance of parathyroid glands has more value than microscopic cell characteristics for the differential diagnosis between parathyroid adenoma and hyperplasia. Nuclear DNA content analysis showed that both, adenoma and hyperplasia are more commonly diploid. The expression of several genes was variable in normal, adenomatous and hyperplasic glands but those differences were not statistically significant. There was low concordance in the diagnosis of parathyroid pathology between the three pathologists.

Antecedentes:

El hiperparatiroidismo primario (HPT) es una entidad patológica reconocida cada vez con mayor frecuencia, como resultado del empleo creciente de pruebas bioquímicas de escrutinio (1). Es más frecuente en mujeres y en los Estados Unidos de Norteamérica tiene una incidencia de aproximadamente 27 por 100,000 habitantes, con una prevalencia de entre 1.5 y 3 por 1,000 habitantes y una frecuencia de casi 100,000 nuevos casos al año (2,3).

La enfermedad ocurre como consecuencia de la excesiva secreción de hormona paratiroidea (PTH) por el desarrollo de un adenoma paratiroideo, hiperplasia o cáncer. La causa que da lugar a la hipersecreción de PTH no es clara, habiéndose postulado como alteración predominante, un defecto en los mecanismos sensores de calcio (4). Las enfermedades paratiroideas pueden presentarse en forma esporádica o asociada a alguno de los síndromes de neoplasia endocrina múltiple (NEM), de los cuales el más frecuente es la NEM tipo I.

Una vez establecido el diagnóstico, el tratamiento es quirúrgico. La intervención consiste en localizar las glándulas normales y anormales, definir la naturaleza de la lesión y determinar la extensión de la resección apropiada para cada caso (5).

Esta es una enfermedad en la que la experiencia del grupo involucrado en su tratamiento tiene un gran impacto en los resultados. Un estudio realizado en la península escandinávica que comparó los resultados del tratamiento quirúrgico del HPT en centros con diversos grados de experiencia (6) demostró una estrecha relación entre el nivel de experiencia y la frecuencia de curación. En hospitales habituados a realizar este tipo de intervenciones, la frecuencia de normocalcemia postoperatoria fue del 90%, mientras que en aquellos cuya frecuencia anual de intervenciones era inferior a 10, el porcentaje de normocalcemia postoperatoria fue de tan solo 70% y 15% de los casos desarrollaron hipoparatiroidismo persistente.

Los determinantes de éxito en la intervención quirúrgica son fundamentalmente dos: el conocimiento de la embriología, anatomía y variantes de localización de las glándulas paratiroides; y la capacidad para discriminar entre enfermedad uniglandular y multiglandular.

Para el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia, contamos con dos métodos fundamentales: la apariencia macroscópica de las glándulas y el análisis histológico (7), sin embargo, ambos métodos son imperfectos y aún no existe un método inequívoco para establecer el diagnóstico diferencial. Como resultado de la falta de este método inequívoco, la frecuencia de enfermedad uniglandular y multiglandular (90% y 10% respectivamente) informada en series

en las que el diagnóstico se establece con base en la apariencia macroscópica, contrasta con una frecuencia de hiperplasia de hasta el 40% cuando dicho diagnóstico se establece en especímenes histológicos (8).

En un esfuerzo por encontrar elementos que permitan establecer con certeza la diferencia entre adenoma e hiperplasia, se ha evaluado comparativamente el contenido nuclear de ácido desoxirribonucleico (DNA) (9), y se ha buscado la expresión de diversos oncogenes en tejido paratiroideo (10), sin que se haya encontrado un método que permita diferenciar los adenomas de los casos de hiperplasia. La falta de este elemento diagnóstico ha hecho que en la mayor parte de los pacientes el diagnóstico y derivado de éste, las decisiones terapéuticas se basen en criterios quirúrgicos.

Tomando en cuenta la experiencia generada con otras lesiones, sería de particular importancia evaluar la activación de H-ras, K-ras y N-ras que caracteriza diversas lesiones malignas, el CaR que constituye el principal regulador de la secreción de PTH, de los genes reguladores de la muerte celular programada, tales como bcl2, bax, fas y gld, de algunos oncogenes y de los genes supresores de tumores.

Objetivo general:

El objetivo general de la presente tesis consiste en establecer la capacidad diagnóstica de diversos elementos para diferenciar entre adenoma e hiperplasia paratiroidea.

Objetivos primarios:

- 1) Evaluar la concordancia entre el juicio quirúrgico y el estudio histopatológico en pacientes con hiperparatiroidismo primario, así como la utilidad diagnóstica de cada método, tomando como estándar de oro la evolución clínica y bioquímica.

- 2) Investigar las diferencias en el contenido nuclear de DNA entre tejido adenomatoso e hiperplásico y determinar comparativamente la expresión de diversos genes tales como el gen del receptor humano de calcio, genes reguladores de la muerte celular programada, oncogenes y genes supresores de tumores, en tejido paratiroideo adenomatoso e hiperplásico.

Objetivo secundario:

Evaluar la reproducibilidad del diagnóstico histológico mediante el análisis ciego de laminillas por 3 patólogos.

Material y métodos:

Tamaño de muestra:

Considerando la concordancia conocida entre las evaluaciones quirúrgica e histológica, el análisis de pares discriminantes implica una diferencia de prácticamente el 100% (Fig. 1). Para determinar una sensibilidad del 90% con un intervalo de confianza al 95% de ± 10 y tomando en cuenta que la discrepancia quirúrgico/histológica ocurre sólo en enfermedad uniglandular, se requiere estudiar un mínimo de 35 pacientes. La fórmula empleada fue:

$$(1-P) (P) \left(\frac{2\alpha}{1c} \right)^2$$

Grupo de estudio:

Se incluyeron 40 pacientes que fueron intervenidos quirúrgicamente por hiperparatiroidismo primario por o bajo la supervisión de un solo cirujano en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, en un periodo de 3 años (1993-1995). La distribución por sexo mostró que 33 pacientes fueron del sexo femenino y 7 del masculino con una edad promedio de 55 ± 14 años. En todos los casos, hubo confirmación bioquímica de la enfermedad, siendo las cifras promedio de calcio al momento del diagnóstico de 12.9 ± 1.2 mg/dl (normal de 8.8 a 11.1) y las de fósforo de 2.7 ± 0.7 mg/dl (normal de 2.2 a 4.5). Durante el periodo del estudio, las determinaciones de PTH se realizaron empleando dos técnicas diferentes, inicialmente midiendo la molécula media y posteriormente la molécula intacta. Si tomamos el valor superior normal como el 100%, todos los pacientes mostraron elevación de las cifras de PTH al momento del diagnóstico independientemente de la técnica empleada.

En todos los pacientes se practicó exploración bilateral del cuello. Desde el punto de vista quirúrgico, se estableció el diagnóstico de adenoma si el enfermo mostraba una glándula de por lo menos el doble de tamaño de las demás y el de hiperplasia, cuando más de una glándula se encontró aumentada de tamaño al doble del normal esperable (≤ 0.5 cm en su eje mayor). A los casos catalogados como adenoma se les practicó únicamente resección de la glándula afectada con o sin biopsia de una glándula normal y los pacientes con enfermedad

multiglandular (hiperplasia), fueron tratados mediante resección de 3 a 3½ glándulas, preservando un fragmento de tamaño similar al de una glándula normal.

El tejido extirpado fue sistemáticamente enviado al servicio de patología para su análisis, conservándose un fragmento para estudios de biología molecular.

Objetivos primarios:

Para evaluar la concordancia entre el juicio quirúrgico y el estudio histopatológico, se practicaron las siguientes maniobras:

1. Los especímenes de patología fueron revisados y diagnosticados como adenoma o hiperplasia de acuerdo a los criterios propuestos por Ghandur-Mnaimneh y Kimura (11) que se incluyen en la tabla 1.
2. Todos los pacientes fueron evaluados durante los 3 años siguientes a la intervención, mediante determinaciones anuales de Ca, P, y PTH.

Una vez obtenidos los resultados, se practicó un análisis de concordancia y se calculó la sensibilidad de los diagnósticos quirúrgico e histopatológico para detectar los dos tipos de lesión, tomando como estándar de oro a la evolución postoperatoria. De acuerdo a la combinación de criterios, el diagnóstico final se estableció de la siguiente forma:

- a) Diagnóstico quirúrgico de adenoma con resección de una sola glándula y normocalcemia persistente por 3 años = adenoma.
- b) Diagnóstico quirúrgico de adenoma con resección de una sola glándula e hipercalcemia persistente o recurrente durante la vigilancia a 3 años = hiperplasia.
- c) Diagnóstico histológico de adenoma con resección de una sola glándula y normocalcemia postoperatoria a 3 años = adenoma.

- d) Diagnóstico histológico de hiperplasia con resección de una sola glándula y normocalcemia postoperatoria a 3 años = adenoma.
- e) Diagnóstico histológico de hiperplasia con resección de una sola glándula e hipercalcemia durante la vigilancia a 3 años = hiperplasia.
- f) Diagnóstico quirúrgico e histológico de hiperplasia con resección de ≥ 3 glándulas independientemente de la evolución = hiperplasia.

Para la investigación de las diferencias en el contenido nuclear de DNA, se analizaron 5 glándulas normales, 10 muestras aleatorias de tejido adenomatoso y 10 muestras de tejido hiperplásico. Estas últimas estuvieron conformadas por las 5 enfermedades multiglandulares incluidas en el estudio de seguimiento y 5 muestras de glándulas provenientes de pacientes con diagnóstico inequívoco de hiperplasia paratiroidea asociada a NEM I (obsequio del Dr. Clive Grant de la Clínica Mayo, Rochester, Minnesota). La evaluación del contenido nuclear se realizó por métodos estándar mediante el análisis de núcleos aislados y teñidos con yoduro de propidio. El análisis se realizó en un citómetro de flujo (FACScan) (Becton Dickinson, Sunnyvale, CA). Los histogramas se generaron mediante el análisis de 20,000 núcleos por muestra y la evaluación del ciclo celular se llevó a cabo mediante el programa "cellfit" (12).

Los patrones de ploidía se dividieron en tres grupos. a) Los histogramas con un pico simétrico G1 fueron clasificados como diploides o normales. b) Los

histogramas con más del 13% de los núcleos en la posición 4c fueron clasificados como tetraploides. c) Los histogramas que mostraron un pico separado de las posiciones 2C y 4C fueron clasificados como aneuploides.

Se investigó además la expresión de 10 diferentes genes en las muestras aleatorias de tejido adenomatoso y de tejido hiperplásico. Los genes investigados fueron:

- a) Gen controlador de estructura: Ciclofilina (receptor de ciclosporina A) que se tomó como control.
- b) Genes reguladores de muerte celular programada: bcl-2, bax, fas, gld.
- c) Oncogenes: c-myc, c-fos, c-jun.
- d) Gen supresor de tumores: P53.
- e) Gen del receptor de calcio en humanos (hu CaR).

Para su búsqueda se empleó el método de reacción de polimerasa en cadena (PCR). Se aisló RNA a partir de muestras congeladas mediante Trizol de acuerdo a técnicas estándar. El RNA purificado se trató con DNasa I. La síntesis de cDNA se realizó usando transcriptasa reversa del virus Moloney de la leucemia murina. El cDNA resultante se dividió en 10 alícuotas para amplificación mediante PCR empleando varios oligonucleótidos sentido y antisentido específicos para cada gen (tabla 2). Los productos amplificados se detectaron por electroforesis en agarosa con bromuro de etidio. Los geles se fotografiaron y se transfirieron a

membranas de nylon para la incorporación de dATP biotinilado. Las membranas se expusieron a películas de rayos X Kodak X-OMAT por un minuto. Las películas de rayos X se analizaron por densitometría. La intensidad de las bandas se estimó normalizando los valores al control positivo de Ciclofilina incluido en cada PCR. La especificidad de cada gen examinado se confirmó mediante hibridación con oligonucleótidos internos específicos (13).

Objetivo secundario:

Para evaluar la reproducibilidad del diagnóstico histológico, se revisaron las laminillas de los pacientes en forma ciega por tres patólogos expertos en patología endocrina. Cada uno de los patólogos además de establecer el diagnóstico de la lesión, destacó las características citológicas e histológicas que le condujeron a establecer el diagnóstico. Las laminillas se etiquetaron con números consecutivos que fueron cambiados antes de la revisión por cada uno de ellos. Se practicó un análisis de concordancia de los diagnósticos establecidos y de los detalles evaluados.

Resultados:

Desde el punto de vista quirúrgico se diagnosticó enfermedad uniglandular en 35 pacientes y multiglandular en 5. A los pacientes con enfermedad uniglandular se les practicó resección de la glándula afectada y a los afectados de enfermedad pluriglandular se les extirparon 3 glándulas completas y un fragmento de la cuarta, dejando una porción de tejido equivalente a una glándula sana. El peso promedio de las glándulas adenomatosas fue de 3 ± 7 gr (rango de 0.153 a 40 gr) y su tamaño promedio en los dos ejes principales de 20 ± 11 mm X 12 ± 9 mm (rango de 7 X 5 a 60 X 45 mm). El peso y tamaño de las glándulas hiperplásicas no se pudo determinar ya que rutinariamente se criopreservan uno o varios fragmentos para posible autotransplante.

Tres pacientes fallecieron antes de los 3 años de seguimiento, de causas ajenas a la enfermedad y fueron excluidos. Las cifras de Ca y PTH en la evolución previa al fallecimiento fueron normales en los 3 pacientes. El grupo restante fue clasificado en 3 grupos de acuerdo a la concordancia entre el diagnóstico quirúrgico y el histológico. En 21 pacientes tanto el diagnóstico quirúrgico como el histológico fue de adenoma; en 5, ambos diagnósticos coincidieron en la existencia de hiperplasia y en 11, el diagnóstico quirúrgico fue de adenoma y el histológico de hiperplasia, quedando así 26 casos concordantes y 11 discordantes. Los resultados del seguimiento de ambos grupos se muestran en las tablas 3 y 4.

El análisis del contenido nuclear de DNA practicado en 10 muestras de tejido adenomatoso y 6 de hiperplásico, mostró un patrón diploide en la totalidad de las muestras hiperplásicas. Dos de los 10 adenomas cursaron con un patrón tetraploide, 7 mostraron patrón diploide y 1 aneuploide, haciendo imposible la diferenciación de ambas entidades por este método. En la tabla 5 se muestra la distribución del patrón de contenido nuclear de DNA en las muestras evaluadas. Las figuras 2, 3 y 4 muestran ejemplos representativos de los diferentes patrones de DNA.

El análisis de los genes evaluados puso de manifiesto que el tejido paratiroideo normal expresa regularmente huCa, c-fos, p53 y bax. No se encontró expresión del gen fas ni el gid y la expresión del bcl-2, el c-myc y el c-jun fue muy variable (Tabla 6). En el tejido enfermo, se encontró expresión sistemática de todos los genes evaluados a excepción de fas y gid. El análisis comparativo mostró una tendencia a la mayor expresión de bcl-2 y c-jun en el tejido hiperplásico y de p53 en los adenomas, sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significación estadística (Tabla 7-9). La figura 5 muestra un ejemplo de la expresión genética encontrada en una de las muestras de adenoma.

Los resultados de la concordancia entre patólogos se muestran en las tablas 10 a 13. En forma inicial, se evaluó la concordancia entre los tres patólogos

y posteriormente tomando a los patólogos por pares. Cabe destacar que hubo una gran discordancia en la apreciación de los componentes diagnósticos evaluados por cada uno de los patólogos, pero que, en lo que se refiere al diagnóstico, la discordancia estuvo dada fundamentalmente por el patólogo número 3.

Discusión:

En los 75 años posteriores a la realización de la primer paratiroidectomía por Felix Mandl en Viena en 1925, son muchos los logros que se han obtenido en el conocimiento de la enfermedad, su diagnóstico y tratamiento. En la actualidad, la sospecha diagnóstica de HPT en muchos casos se plantea antes de que aparezcan las complicaciones graves de la enfermedad, el diagnóstico de HPT se establece con gran seguridad y el tratamiento quirúrgico, cuando es realizado por un cirujano experto, logra la curación en mas del 90% de los pacientes con morbilidad mínima (5). Sin embargo, dentro de los aspectos que aun están pendientes de resolver está la disponibilidad de un método inequívoco para establecer el diagnóstico diferencial entre el adenoma paratiroideo y los casos de hiperplasia.

Desde el punto de vista quirúrgico, una sola glándula crecida representa un adenoma y el aumento de tamaño de más de una es diagnóstico de hiperplasia. Un punto débil en la apreciación está dado por el hecho de que entre el 3 y 4% de los pacientes, presenta crecimiento variable de las glándulas, lo que obliga a diferenciar un adenoma doble de una hiperplasia asimétrica.

Las paratiroides normales varían en mucho en su aspecto. Algunas son ovals otras muestran un aspecto arríñonado, pueden estar aplanadas o bien adoptar un aspecto de hoja. Su consistencia es blanda y su color generalmente

amarillo-café, sin embargo, éste está en relación con el contenido de grasa y así las glándulas con alto contenido de grasa son más amarillas y las que tienen un bajo contenido muestran un color café. Su tamaño varía pero en general se encuentra dentro de 5 mm x 4 mm x 2 mm y su peso, también variable, oscila en la mayor parte de los casos entre 40 y 60 mg. Histológicamente las glándulas normales muestran un predominio de células principales con una proporción menor del 4% de células oxifílicas (14).

El aumento de volumen de una glándula es conocido como adenoma. Si bien pueden existir adenomas de menos de 100 mg; la mayor parte de los adenomas extirpados en cirugía tienen un peso superior a los 300 mg. Generalmente tienen un color más rojizo que las glándulas normales y con frecuencia muestran una zona más amarillenta en forma de capucha a nivel del hilo que representa un remanente de tejido paratiroideo normal. (Fig 6) Como las glándulas normales los adenomas tienen un predominio de células principales y su citoplasma un contenido de lípidos muy bajo o incluso nulo (15,16) (Fig. 7).

Existen dos tipos de hiperplasia. La hiperplasia de células principales (la más frecuente) y la de células claras. La hiperplasia de células principales es muy irregular. Puede mostrar un patrón difuso, nodular o una mezcla de ambos. Las células principales pueden alternar con células oxifílicas e incluso pueden apreciarse zonas pequeñas de células claras. Las células adiposas suelen ser

abundantes, predominantemente en el tipo nodular. En forma opuesta, la hiperplasia de células claras tiene un patrón monomorfo constituido exclusivamente por células claras de 20 a 40 μm de diámetro (15) (Fig. 8).

Considerando sus diferencias estructurales, el diagnóstico diferencial entre enfermedad uniglandular y multiglandular desde el punto de vista histológico se basa en diferencias en la presencia de adipocitos, lobulación, vascularidad, un ribete de tejido normal, y uno o más tipos celulares.

En 1984, el Departamento de Patología de la Universidad de Miami (11) publicó un estudio tendiente a evaluar la precisión del diagnóstico histológico en la diferenciación de adenomas e hiperplasia paratiroidea. En la evaluación a largo plazo de 100 pacientes intervenidos quirúrgicamente por la enfermedad, encontraron que en 12 de los 25 pacientes vigilados por un año, las cifras de PTH permanecieron elevadas y en 2 de ellos incluso las de Ca. En 40 pacientes vigilados por 2 a 4 años, el porcentaje de pacientes con elevación de PTH fue de 50% con cifras de calcio altas en el 15%. Estas proporciones de anomalía se conservaron estables a más de 10 años.

La parte inicial de nuestro estudio mostró que a pesar de las grandes variaciones que pueden tener las glándulas paratiroides en su aspecto externo, el solo hecho de encontrar crecimiento selectivo de una sola glándula con un

tamaño igual o mayor al doble del normal, es suficiente para establecer con un alto grado de precisión el diagnóstico de adenoma y que incluso supera al diagnóstico que se pueda establecer sobre bases histológicas. Esta conclusión se basa en el hecho de que ninguno de los pacientes en los que se estableció el diagnóstico quirúrgico de adenoma y fueron tratados como tal, exhibió persistencia de la enfermedad en un tiempo de vigilancia de 3 años. En contraposición, los 11 pacientes en los que se estableció el diagnóstico histológico de hiperplasia y durante la intervención sólo se encontró una glándula anormal, permanecieron eucalcémicos durante el mismo periodo, a pesar de que fueron tratados con resección uniglandular. En el 20% tanto del grupo concordante como discordante, las cifras de PTH se encontraron elevadas en presencia de cifras de calcio dentro de la normalidad.

Un punto necesario de análisis es el estándar de oro para el diagnóstico de recurrencia, tomando en cuenta que aproximadamente el 20% de nuestros pacientes mostraron cifras persistentemente elevadas de PTH durante el seguimiento. Duh y cols. en un estudio (17) mostraron que entre el 15 y el 20% de los pacientes intervenidos quirúrgicamente por HPT sufre elevación persistente de las cifras de PTH con Ca dentro del rango normal y que dentro de los fenómenos que pueden explicar la elevación de la PTH están la deficiencia de vitamina D, la ingesta de diuréticos, la insuficiencia renal y el fenómeno de "hueso hambriento".

Nosotros, como ellos, pensamos que para el diagnóstico de recurrencia de la enfermedad es necesaria la elevación de las cifras de Ca sérico.

El análisis de concordancia en nuestro estudio, refuerza la dificultad que existe para establecer el diagnóstico diferencial de la enfermedad desde el punto de vista histológico. La evaluación en nuestro estudio se realizó en condiciones óptimas. Todas las laminillas fueron seleccionadas por un patólogo para asegurar que los elementos necesarios para la evaluación estuvieran presentes en la laminilla; las muestras de tejido fueron revisadas en forma ciega y los 3 patólogos involucrados en el estudio son médicos habituados a la patología endocrina. El estudio mostró una buena concordancia para el diagnóstico entre dos de los patólogos (95.5) con una Kappa de 90 pero, las kappas para la identificación de los elementos entre los mismos dos patólogos osciló entre 0.17 y 0.72. Al agregarse el tercer patólogo, la Kappa para el diagnóstico descendió a 0.5 con una correlación también muy baja en la interpretación de los elementos diagnósticos.

Dentro de los esfuerzos que se han realizado para encontrar otros elementos que permitan establecer con certeza el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia, se incluyen estudios a diversos niveles. Bowby y cols. (9) mediante citometría de flujo demostraron que las glándulas paratiroides normales y con hiperplasia secundaria poseen un patrón diploide de DNA y que los

carcinomas son tetraploides o aneuploides, sin embargo, la mayor parte de los adenomas e hiperplasias esporádicas también son diploides lo que impide emplear este método para establecer el diagnóstico diferencial. Estos autores encontraron, además, que las glándulas normales tienen un contenido nuclear de DNA significativamente menor que los adenomas, y que los carcinomas poseen un contenido nuclear de DNA significativamente mayor.

El análisis de una muestra de las glándulas paratiroides incluidas en nuestro estudio fue consistente con estos hallazgos, al encontrar que si bien solo el tejido adenomatoso exhibió un patrón aneuploide, hubo un predominio del patrón diploide tanto en el tejido adenomatoso como en el hiperplásico.

Se ha buscado la expresión de diversos oncogenes en tejido paratiroideo, sin que se haya encontrado, por ejemplo, activación de los oncogenes H-ras, K-ras y N-ras —que caracteriza a diversas neoplasias malignas o lesiones premalignas— en adenomas paratiroides (10), impidiendo de esta forma diferenciarlos de los casos de hiperplasia.

La proteína del CaR parece ser el principal regulador de la secreción de PTH. En los pacientes con hipercalcemia hipocalciúrica familiar benigna, se ha demostrado que las mutaciones inactivantes de esta proteína dan como consecuencia una insensibilidad relativa para la inhibición de la secreción de PTH

condicionada por Ca. De la misma forma, se ha observado que las mutaciones activantes se asocian a una mayor sensibilidad de las células paratiroides al Ca. De esta forma se ha hipotetizado que la pérdida de uno o los dos alelos del CaR es responsable del HPT en los casos esporádicos, sin embargo, se ha demostrado pérdida de la heterocigosidad sólo en el 10% de adenomas esporádicos (18) y aunque otros estudios basados en análisis del DNA han mostrado que muchos adenomas paratiroides esporádicos son monoclonales y la hiperplasia no familiar es policlonal (9), no puede establecerse por este medio un diagnóstico diferencial apropiado.

Estudios más recientes han relacionado por lo menos tres defectos genéticos en la génesis del HPT: la sobre-expresión del gen PRAD1/ciclín D1, un gen regulador (19,20,) la pérdida de una región del cromosoma 11 que caracteriza a la NEM 1 (21,22) y la pérdida de un gen supresor tumoral putativo en el cromosoma 1 (23). En particular, en pacientes con hipercalcemia hipocalciúrica familiar e hiperparatiroidismo neonatal grave, se han encontrado por lo menos 16 mutaciones hereditarias diferentes, que no existen en tumores esporádicos (24-26).

Recientemente se ha clonado, secuenciado, expresado in vitro y mapeado el gen del receptor celular superficial de calcio (CaR) en el cromosoma 3 (3qcen-3q2', (27,28). La hipercalcemia familiar hipocalciúrica benigna (FBHH) es una

enfermedad autosómica dominante (29) que se asocia en muchas ocasiones a mutaciones puntuales en el gen del CaR, inactivando a la proteína del receptor, y así se han informado por lo menos 12 diferentes mutaciones (28, 30-32).

La proteína del CaR parece ser el principal regulador de la secreción de PTH, pues las mutaciones inactivantes que ocurren en la FBHH producen una insensibilidad relativa a la supresión habitual del calcio sobre la secreción de PTH (33), y las mutaciones activantes se asocian a un incremento en la sensibilidad de las glándulas paratiroides a los niveles de calcio con una reducción inapropiada en la secreción de PTH (34,35). Más aún, la homocigosidad para la mutación en el gen inactivante del CaR produce el hiperparatiroidismo primario grave del neonato (36).

Un estudio que analiza en forma detallada al CaR en diversas formas de HPT tanto primario como secundario incluyendo adenoma, hiperplasia, carcinoma y terciario, no demostró mutaciones similares a las de la FBHH (24).

La teoría de que los tumores tienen un origen genético y poseen asociación viral es cada día más aceptada. Recientemente se han descrito varios genes que al regula. el ciclo del crecimiento y la muerte celular pueden controlar el devenir de las células. La adecuada regulación de estos eventos preserva la homeostasis,

pero las deficiencias en este sistema de genes pueden generar neoplasias mediante la anarquía en el crecimiento y proliferación celular.

Existe un grupo de genes que suele encontrarse particularmente activado en las neoplasias. En diversos tipos de cáncer se han descrito ciertas secuencias virales que confieren capacidad tumoral a los virus. La asociación de estas secuencias con los genes que codifican para las proteínas implicadas en señales de la transducción, dio lugar a que a este grupo de genes se les denominara oncogenes. Los efectos de la activación de los oncogenes en las células son dominantes, esto significa que el resultado es un efecto positivo del crecimiento celular aun en presencia del mismo gene normal o inactivado (proto-oncogen) (37).

Otro grupo de genes también implicado en la génesis tumoral es el de los reguladores de la apoptosis. Las deficiencias en la inducción de la muerte celular programada pueden incrementar la longevidad de las células. Una célula que vive por periodos más largos tiene mayor probabilidad de acumular mutaciones que podrían contribuir a la patogénesis de enfermedades degenerativas y neoplásicas (37).

El conocimiento de lo anterior permite plantear la hipótesis de que la expresión de los genes podría ser diferente en adenomas e hiperplasia y por ende ser de utilidad en el diagnóstico diferencial.

Los resultados de la expresión de diversos oncogenes en nuestro estudio fueron confusos. Por un lado, hubo mayor expresión de un gen antiapoptótico (bcl-2) y del oncogen c-jun en el tejido hiperplásico y, de la misma forma, que se ha identificado en otras neoplasias, la expresión del P-53 fue mayor en casos de adenoma.

Ante la imposibilidad de establecer con certeza el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia paratiroidea empleando los métodos disponibles hasta el momento, se han empleado otras alternativas para incrementar el índice de curación en la cirugía inicial o en las reintervenciones de los pacientes con HPT.

El mejoramiento de las técnicas de imagen ha hecho posible que en cerca del 80% de los enfermos con HPT pueda establecerse el diagnóstico de enfermedad uniglandular antes de la intervención quirúrgica. Estos resultados se han logrado empleando US con transductores de 7.5 ó 10 MHz (38) y estudios con radioisótopos (39-41). Desafortunadamente, no existe un radioisótopo que sea captado en forma selectiva por las glándulas paratiroides. Los isótopos más

frecuentemente empleados son la combinación de talio/tecnecio que mediante un sistema computarizado de substracción permite resaltar el tejido paratiroideo (39) y el sestamibi que debido a su diferente velocidad de depuración en el tejido tiroideo y paratiroideo permite identificar a los 20 min. de su administración, captación por el tejido paratiroideo anormal (40,41). Se ha demostrado diferente utilidad de cada método en condiciones especiales, y así por ejemplo, el ultrasonido es mas útil para identificar glándulas en localización intratiroidea, mientras que los estudios gammagráficos tienen una mayor sensibilidad para localización de glándulas extratiroideas y mediastinales, particularmente cuando miden 1 cm o más.

En 1994, Irvin y Deriso de la Universidad de Miami describieron el comportamiento y la utilidad de la medición postoperatoria de la PTH mediante un ensayo rápido en pacientes operados por HPT primario (42). En dicho estudio encontraron disminución >50% de las cifras preoperatorias de PTH en los 11 pacientes en los que se extirpó un adenoma único. En 4 pacientes no hubo una reducción de esta magnitud y en todos los casos se identificó tejido anormal adicional. Hubo un solo falso negativo cuyas cifras redujeron 20 minutos después de la escisión. El estudio mostró, además, una correlación excelente entre el ensayo rápido y el método estándar de determinación ($p < 0.0001$). La sensibilidad del ensayo en la predicción de la normalización de las cifras de Ca después de la intervención fue del 94%.

Este método ha hecho posible realizar la exploración unilateral del cuello guiada por US o gammagrama con un alto índice de seguridad. Además, ha sido de gran utilidad para predecir la curación en pacientes con hiperparatiroidismo persistente o recurrente y ha permitido adecuar la magnitud de la resección en casos de hiperplasia.

Conclusiones:

La apreciación macroscópica de las glándulas paratiroides demostró ser más sensible que el análisis histológico para establecer el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia.

El análisis del contenido nuclear de DNA mostró que tanto los adenomas como las glándulas hiperplásicas tienen con mayor frecuencia un patrón diploide.

La expresión de diversos genes fue variable en las glándulas paratiroides normales, los adenomas y las glándulas hiperplásicas; sin embargo, estas diferencias no permiten establecer el diagnóstico diferencial entre adenoma e hiperplasia a través de un análisis semicuantitativo por PCR.

El análisis por 3 patólogos expertos de muestras seleccionadas de tejido paratiroideo mostró concordancia variable. La concordancia fue mayor para establecer el diagnóstico que para la interpretación de los elementos involucrados en dicho diagnóstico.

Referencias:

1. Scholz DA, Purnell DC. Asymptomatic primary hyperparathyroidism: 10-year prospective study. *Mayo Clin Proc* 1981;56:473-8.
2. Boonstra CE, Jackson CE. Serum calcium survey for hyperparathyroidism. *Am J Clin Pathol* 1971;55:523-6.
3. Heath H, Hodgson SF, Kennedy MA. Primary hyperparathyroidism: Incidence, morbidity, and potential economic impact in a community. *N Engl J Med* 1980;302:189-93.
4. Brown EM. Extracellular Ca^{2+} sensing, regulation of parathyroid cell function, and role of Ca^{2+} and other ions as extracellular (first) messengers. *Physiol Rev* 1991;71:371-411.
5. van Heerden JA, Grant CS. Surgical treatment of primary hyperparathyroidism: An institutional perspective. *World J Surg* 1991;15:688-92.
6. Malmaeus J, Granberg PO, Halvorsen J, Akerström G, Johansson H. Parathyroid surgery in Scandinavia. *Acta Chir Scand* 1988;154:409-13.
7. Johansson H, Ljunghall S, Rastad J. The role of the pathologist in diagnosis and surgical decision making in hyperparathyroidism. *World J Surg* 1991;15:698-705.
8. Paloyan D, Pickelman JR. Hyperparathyroidism today. *Surg Clin North Am* 1973;53:211.
9. Bowby LS, DeBault LE, Abraham SR. Flow cytometric analysis of parathyroid glands: Relationships between nuclear DNA and pathologic classifications. *Am J Pathol* 1987;126:338.
10. Friedman E, Bale AE, Marx SJ, Norton JA, Arnold A, Tu T, Aurbach GD. Genetic abnormalities in sporadic parathyroid adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:293-7.

11. Ghandur-Mnaymneh L, Kimura N. The parathyroid adenoma: A histopathologic definition with a study of 172 cases of primary hyperparathyroidism. *Am J Pathol* 1984;115:70-83.
12. Dressler LG, Bartow SA. DNA flow cytometry in solid tumors: practical aspects and clinical applications. *Sem Diagnostic Pathol* 1989;6:55-82.
13. Richaud-Patin Y, Alcocer-Varela J, Llorente L. High levels of TH2 cytokine gene expression in systemic lupus erythematosus. *Rev Invest Clin* 1995;47:267-72.
14. Akerström G, Grimelius L, Johansson H, Lundqvist H, Pertoft H, Bergström R. The parenchymal cell mass in normal human parathyroid glands. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand (A)* 1981;89:367.
15. Bondeson AG, Bondeson L, Ljungberg O, Tibblin S. Fat staining in parathyroid disease: Diagnostic value and impact on surgical strategy: Clinicopathologic analysis of 191 cases. *Hum Pathol* 1985;16:1255.
16. Poole GV, Albertson DA, Marshal RB, Myers RT. Oxyphil cell adenoma and hyperparathyroidism. *Surgery* 1982;92:799.
17. Duh QY, Arnaud CD, Levin KE, Clark OH. Parathyroid hormone: Before and after parathyroidectomy. *Surgery* 1986;100:1021-31.
18. Friedman E, Sakaguchi K, Bale AE, et al: Clonality of parathyroid tumors in familial multiple endocrine neoplasia type I. *N Engl J Med* 1989;321:213-8.
19. Thompson DB, Samowitz WS, Odelberg S, Davis K, Szabo J, Heath H. Genetic abnormalities in sporadic parathyroid adenomas: Loss of heterozygosity for chromosome 3q markers flanking the calcium receptor locus. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80:3377-80.
20. Arnold A, Kim HG, Gaz RD. Molecular cloning and chromosomal mapping of DNA rearranged with the parathyroid hormone gene in a parathyroid adenoma. *J Clin Invest* 1989;83:2034-40.
21. Motokura T, Bloom T, Kim HG, et al: A novel cyclin encoded by a bcl1-linked candidate oncogene. *Nature* 1991;350:512-15.

22. Thakker RV, Bouloux P, Wooding C, et al. Association of parathyroid tumors in multiple endocrine neoplasia type I with loss of alleles on chromosome 11. *N Engl J Med* 1989;321:218-24.
23. Cryns VL, Yi SM, Tahara H, Gaz RD, Arnold A. Frequent loss of chromosome arm 1p DNA in parathyroid adenomas. *Genes Chrom Cancer* 1995;13:9-17.
24. Hosokawa Y, Pollak MR, Brown EM, Arnold A. Mutational analysis of the extracellular Ca²⁺-sensing receptor gene in human parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3107-10.
25. Pearce SHS, Trump D, Wooding C, et al: Four novel mutations in the calcium-sensing receptor gene associated with familial benign (hypocalciuric) hypercalcemia. (Abstract) *J Bone Min Res* 1994;9(Suppl. 1):S145.
26. Heath H III, Odelberg S, Brown D, et al. Sequence analysis of the parathyroid cell calcium receptor (CaR) gene in familial benign hypercalcemia (FBH): a multiplicity of mutations (Abstract) *J Bone Miner Res* 9 (Suppl 1):S414.
27. Chou Y-H W, Brown EM, Levi T, et al. The gene responsible for familial hypocalciuric hypercalcemia maps to chromosome 3q in four unrelated families. *Nature Genet* 1992;1:295-300.
28. Pollak MR, Brown EM, Chou Y-H W, et al. Mutations in the human Ca²⁺ sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Cell* 1993;75:1297-1303.
29. Heath H III. Familial benign hypercalcemia - from clinical description to molecular genetics. *West J Med* 1994;160:554-61.
30. Wooding C, Besser GM, Chew SL, Heath DA, Hughes IA, Thakker RV, Four novel mutations in the calcium sensing receptor gene associated with familial benign (hypocalciuric) hypercalcemia. *J Bone Miner Res* 1994;9(Suppl 1):S145.
31. Heath H III, Odelberg S, Brown D, et al: Mutations of calcium receptor (CaR) exons 4 to 7 do not account for all cases of familial benign (hypocalciuric) hypercalcemia (FBH). *Bone* 1995;16(Suppl 1):140S.

32. Janicic N, Pausova Z, Salisbury S, Cole DEC, Hendy GN. Insertion of an ALU sequence in the human Ca^{2+} sensing receptor gene results in familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Bone* 1995;16(Suppl 1):86s.
33. Khosla S, Ebeling PR, Firek AF, Burritt MM, Kao P-C, Heath H III. Calcium infusion suggests a "set-point" abnormality of parathyroid gland function in familial benign hypercalcemia and more complex disturbances in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:715-20.
34. Pollak MR, Brown EM, Estep HL, et al: Autosomal dominant hypocalcemia caused by a Ca^{2+} -sensing receptor gene mutation. *Nature Genet* 1994;8:303-7.
35. Perry YM, Finegold DN, Armitage MM, Ferrell RE. Missense mutation in the Ca -sensing receptor gene causes familial autosomal dominant hypoparathyroidism. *Am J Hum Genet* 1994;55:A17.
36. Pollak MR, Chou Y-H W, Marx SJ, et al. Familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. Effects of mutant gene dosage on phenotype. *J Clin Invest* 1994;93:1108-12.
37. Krontiris TG. *Oncogenes*. *New Engl J Med* 1995;333:303-6.
38. Edis AJ, Evans PC. High-resolution real-time ultrasonography and preoperative localization of parathyroid tumors. *N Engl J Med* 1979;301:532.
39. Hauty M, Swatz K, McClung M, Lowe DK. Technetium thallium scintiscanning for localizing of parathyroid adenomas and hyperplasia: A reappraisal. *Am J Surg* 1987;153:479.
40. Casas AT, Burkle GJ, Sathyanarayan A, et al. Prospective comparison of technetium 99m sestamibi/iodine 123 scan versus high resolution ultrasonography for the preoperative localization of abnormal parathyroid glands in patients with previously unoperated primary hyperparathyroidism. *Am J Surg* 1993;166:369.

41. Thulé P, Tharoke K, Vasant J, et al. Preoperative localization of parathyroid tissue with technetium 99m sestamibi Y123 subtraction scanning. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:77.
42. Irvin GL, Deriso GT. A new practical intraoperative parathyroid hormone assay. *Am J Surg* 1994;168:466-8.

Tabla 1
Características histológicas distintivas de adenomas e hiperplasia paratiroidea

	Adenoma	Hiperplasia
Características básicas		
• Adipocitos	-	+/-
• Lobulación	-	+/-
• Coexistencia con tejido normal	-	+/-
Características secundarias		
• Tipos celulares	1	2 ó 3
• Vasos sanguíneos	pequeños y delgados	grandes y gruesos
• Cápsula	gruesa	ausente

Tabla 2

Iniciadores sentido y antisentido para el análisis por PCR

		Tamaño del Producto (pb)
Ciclofilina		
Sentido	5'-CCGCGTCTCCTTTGACGTGTTT - 3'	569
AntiSentido	5'-ACCCAAAGGGAAGTGCAGCGAGAG - 3'	
HuCa R		
Sentido	5'-GGAGTCTGTGGAATGTATCAGG - 3'	264
AntiSentido	5'-GAGACGCCTGAGCCAGTTGC - 3'	
P53		
Sentido	5'-GCATGGGCGGCATGAACCGGAG - 3'	385
AntiSentido	5'-GGACTTCAGGTGGCTGGAGTGAGC - 3'	
Bcl-2		
Sentido	5'-ACGACTTCTCCCGCCGCTACC - 3'	192
AntiSentido	5'-TCTCCCGGTTGACGCTCTCCA - 3'	
Bax		
Sentido	5'-GACCCGGTGCCTCAGGA - 3'	210
AntiSentido	5'-CCAGTTCGTCCCCGAT - 3'	
Fas		
Sentido	5'-ATGCTGGGCATCTGGACCCTCCTA - 3'	384
AntiSentido	5'-TCTGCACTTGGTATTCTGGGTCCG - 3'	
Gld		
Sentido	5'-CTACAGGACTGAGAAGAAGT - 3'	970
AntiSentido	5'-CAACATTCTCGGTGCTGTGTAAC - 3'	
c-myc		
Sentido	5'-GCACTGGAAGTACAACACCC - 3'	224
AntiSentido	5'-CGAGGTCATAGTTCCTGTTGG - 3'	
c-fos		
Sentido	5'-GAGCTGACTGATACACTCCA - 3'	296
AntiSentido	5'-GCTCTTGACAGGTTCCACTG - 3'	
c-jun		
Sentido	5'-CCAAGAACGTGACAGATGAG - 3'	228
AntiSentido	5'-AGTTGCTGAGGTTTGCGTAG - 3'	

Tabla 3
Evolución del calcio durante el seguimiento a 5 años en el grupo de
pacientes con diagnóstico concordante y discordante

Diagnóstico	Preoperatorio	A ñ o s				
		1 n=37	2 n=36	3 n=34	4 n=24	5 n=14
	Ca x	Ca normal	Ca normal	Ca normal	Ca normal	Ca normal
Concordante (26)	12.9 ± 1 mg/dl	100%	100%	100%	100%	100%
Discordante (11)	13.1 ± 1 mg/dl	100%	100%	100%	100%	100%

Tabla 4
Evolución de la PTH durante el seguimiento a 5 años en el grupo de
pacientes con diagnóstico concordante y discordante

Diagnóstico	Preoperatorio n=32	A ñ o s				
		1 n=32	2 n=29	3 n=27	4 n=24	5 n=14
	PTH normal	PTH normal	PTH normal	PTH normal	PTH normal	PTH normal
Concordante (26)	0	90%	90%	78%	90%	100%
Discordante (11)	11%	86%	84%	83%	66%	72%

Tabla 5
Contenido nuclear de DNA en adenomas e hiperplasia

Patrón	Adenoma n = 10	Hiperplasia n = 6
Diploide	7	6
Tetraploide	1	0
Aneuploide	2	0

Tabla 6
Expresión de diversos oncogenes en tejido paratiroideo normal

Muestra	huCaR	bcl-2	c-myc	c-fos	c-jun	p-53	Bax
1	0.57	0.63	0.21	0.90	0	0.28	0.09
2	0.38	0.37	0	0.54	0	0.06	0.14
3	0.55	0	0.16	0.79	0.03	0.14	0.04
4	0.35	0.09	0.50	0.52	0	0.20	0.32
5	0.48	1.08	0	1.30	0	0.72	0.96
6	0.62	0.67	0.44	1.09	0	0.46	0.22
7	0.36	0	0	0.12	0	0.09	0.12
X±DE	0.47±.1	0.56±.3	0.21±.1	0.68±.1	0.007±.0	0.17±.1	0.14±.1
E/t	7/7	5/7	4/7	7/7	1/4	7/7	7/7

e/t = expresión/total

Las unidades son arbitrarias y corresponden a la relación de la densidad óptica de cada una de las bandas contra la del gen estructural (ciclofilina) tomada como la unidad.

Tabla 7
Expresión de diversos oncogenes en adenomas

Muestra	huCaR	bcl-2	c-myc	c-fos	c-jun	p-53	Bax
1	0.45	0.64	0.12	0.45	0.29	0.59	0.33
2	0.16	0.39	0.3	0.61	0.03	0.84	0.31
3	0.5	0.42	0.68	0.92	0	2.04	0.2
4	0.21	0.7	0.17	0.9	0	0	0.04
5	0.26	0.69	1	0.95	0	1	0.15
6	0.21	0.51	0.2	0.8	0	0.43	0.13
7	0.39	0.35	0.14	0.8	0	0.55	0.1
8	0.55	0.47	0.08	0.52	0	1.01	0.51
9	0	0.51	0	0.55	0	0	0
10	0.73	0	0	1.47	0.35	0.2	0.68
11	0	0	0	1.01	0	0	0.26
12	0.73	0	0.21	0.27	0	0.49	0.02
X±DE	0.41±.2	0.52±.1	0.32±.3	0.77±.3	0.22±1	0.79±.5	0.25±.2
e/t	10/12	9/12	9/12	12/12	3/12	9/12	11/12

e/t = expresión/total

Las unidades son arbitrarias y corresponden a la relación de la densidad óptica de cada una de las bandas contra la del gen estructural (ciclofilina) tomada como la unidad.

Tabla 8
Expresión de diversos oncogenes en hiperplasia

Muestra	huCaR	bcl-2	c-myc	c-fos	c-jun	p-53	Bax
1	0	3.08	0	0.52	0	0.04	0
2	0.33	0.71	0.25	2.6	0.06	0.87	0.04
3	0.39	0.49	0.5	1.07	0.17	0.73	0.05
4	0.35	0	0	1.02	0.56	0	0.68
5	0.23	0	0	0.72	0	0.2	0.31
6	0.31	0.64	0.09	0.55	0	0.66	0.15
7	0.5	0.22	0.15	0.63	0	0.45	0.16
8	0.83	0.85	0.24	0.74	0.13	0.5	0.34
9	0	0	0	0.05	0	1.1	0.2
10	3.05	0.61	0.35	0.28	0.29	1.7	0.14
11	1.58	0.75	0.35	0.48	0.06	1.43	0.29
12	0.73	0.66	0.28	0.55	0	1.09	0.24
13	0.76	0.03	0	0.12	0.09	0.61	0
X±DE	.82±.83	.80±.84	.27±.28	.72±.64	.19±.18	.78±.48	.23±.17
e/t	11/13	10/13	8/13	13/13	7/13	12/13	11/13

e/t = expresión/total

Las unidades son arbitrarias y corresponden a la relación de la densidad óptica de cada una de las bandas contra la del gen estructural (ciclofilina) tomada como la unidad.

Tabla 9
Evaluación comparativa de la expresión de diversos oncogenes en adenomas e hiperplasia paratiroidea

	Adenoma n=10	Hiperplasia n=10	P
huCaR	0.40 ± 0.18	0.34 ± 0.25	0.25
bcl-2	0.52 ± 0.12	1.08 ± 0.89	0.38
c-myc	0.26 ± 0.32	0.18 ± 0.24	0.84
c-fos	0.79 ± 0.29	0.91 ± 0.67	0.36
c-jun	0.06 ± 0.13	0.87 ± 0.18	0.18
p-53	0.66 ± 0.60	0.33 ± 0.32	0.32
bax	0.24 ± 0.21	0.38 ± 0.44	0.84

Todos los valores $x \pm DE$

Las unidades son arbitrarias y corresponden a la relación de la densidad óptica de cada una de las bandas contra la del gen estructural (ciclofilina) tomada como la unidad.

Tabla 10
Concordancia para el diagnóstico y la identificación
de variables histológicas
(Tres patólogos)

Variable	Concordancia (%)	Kappa
Diagnóstico		0.5
• Adenoma	35	
• Hiperplasia	30	
• Carcinoma	2	
Adipocitos		0.56
• Presencia	30	
• Ausencia	36	
Lobulación		0.14
• Presencia	35	
• Ausencia	6	
Ribete de tejido normal		0.47
• Presente	32.6	
• Ausente	26	
Tipos celulares		0.29
• Uno	8.7	
• Más de uno	45.6	
Vascularidad		0.13
• Vasos delgados	4	
• Vasos gruesos	10	
Cápsula		0.13
• Presente	4	
• Ausente	47	

Tabla 11
Concordancia para el diagnóstico y la identificación
de variables histológicas
(Patólogos 1 y 2)

Variable	Concordancia (%)	Kappa
Diagnóstico	95.5	0.90
Adipocitos	87	0.72
Lobulación	67	0.22
Ribete de tejido normal	76	0.56
Tipos celulares	59	0.17
Vascularidad	13	0.29
Cápsula	71	0.24

Tabla 12
Concordancia para el diagnóstico y la identificación
de variables histológicas
(Patólogos 2 y 3)

Variable	Concordancia (%)	Kappa
Diagnóstico	67	0.39
Adipositos	71	0.42
Lobulación	56	0.09
Ribete de tejido normal	74	0.49
Tipos celulares	74	0.27
Vascularidad	65	0.31
Cápsula	80	0.23

Tabla 13
Concordancia para el diagnóstico y la identificación
de variables histológicas
(Patólogos 1 y 3)

Variable	Concordancia (%)	Kappa
Diagnóstico	67	0.39
Adipocitos	80	0.60
Lobulación	59	0.19
Ribete de tejido normal	65	0.38
Tipos celulares	76	0.52
Vascularidad	20	0.05
Cápsula	60	0.02

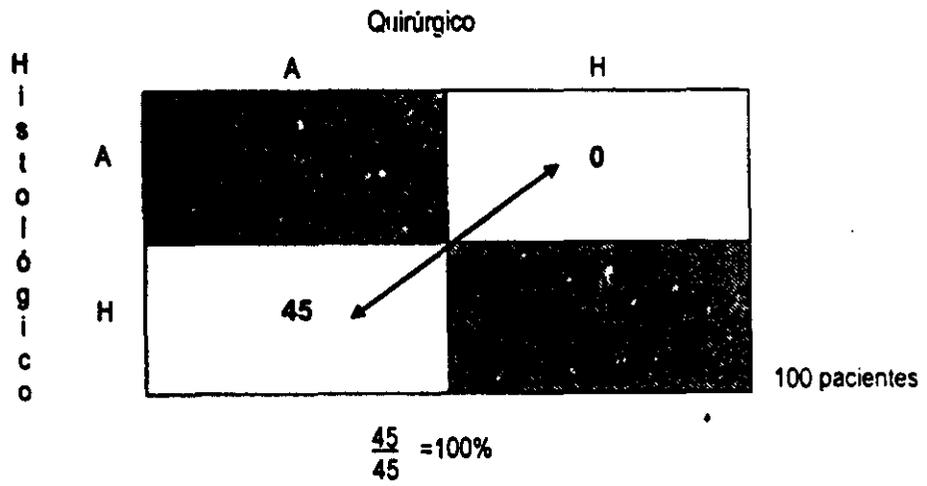


Figura 1. Distribución esperable en 100 pacientes con hiperparatiroidismo primario.

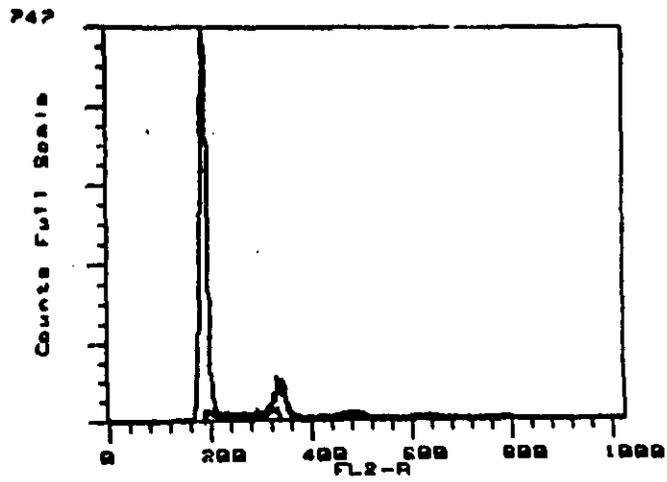


Figura 2. Análisis del contenido nuclear de DNA por citometría de flujo en un caso de hiperplasia paratiroidea, que muestra un patrón diploide característico.

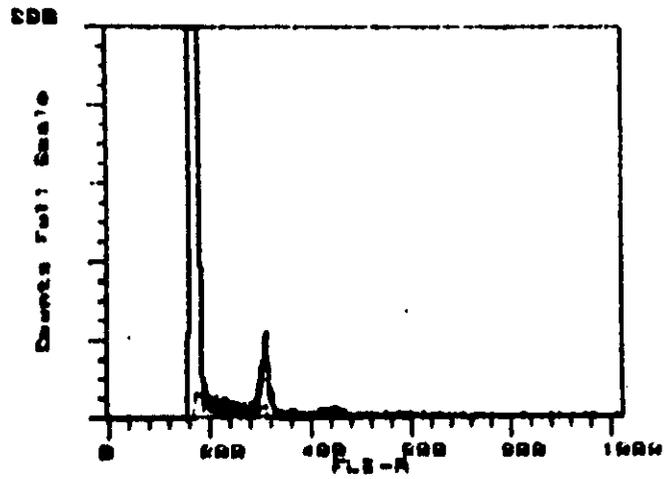


Figura 3. Análisis del contenido nuclear de DNA por citometría de flujo en un adenoma paratiroideo que muestra un patrón tetraploide característico.

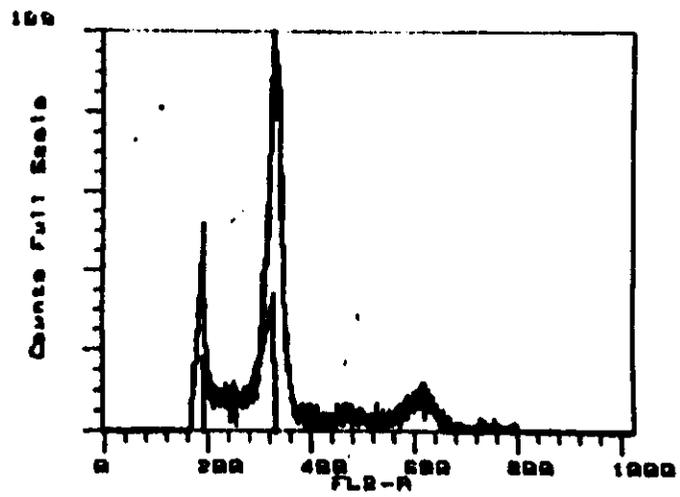


Figura 4. Análisis del contenido nuclear de DNA por citometría de flujo que en un adenoma paratiroideo que muestra un patrón aneuploide característico.

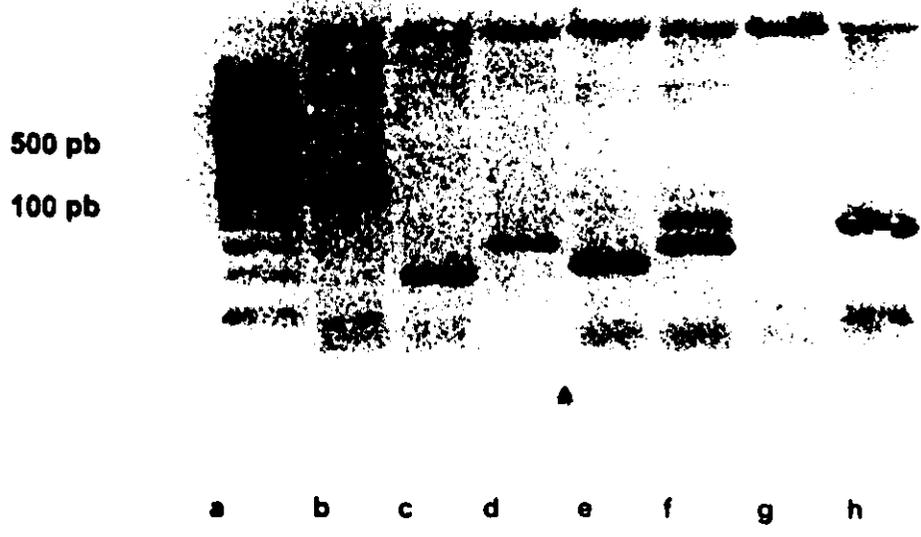


Figura 5. Expresión genética de un adenoma paratiroideo en un negativo de Polaroid que muestra la distribución de los productos de PCR en gel de Agarosa al 1% que contiene Bromuro de Etidio. Línea a, Ciclofilina. Línea b, bcl-2. Línea c, c-fos. Línea d, c-myc. Línea e, c-jun. Línea f, Bax. Línea g, p-53. Línea h, huCaR.



Figura 6. Espécimen histológico de un adenoma paratiroideo teñido con Hematoxilina-Eosina (40x) que muestra la zona de transición entre el adenoma y un ribete de tejido paratiroideo normal (flecha)



Figura 7. Fotomicrografía de un adenoma paratiroideo teñido con Hematoxilina-Eosina (400x) que muestra una sola población celular.

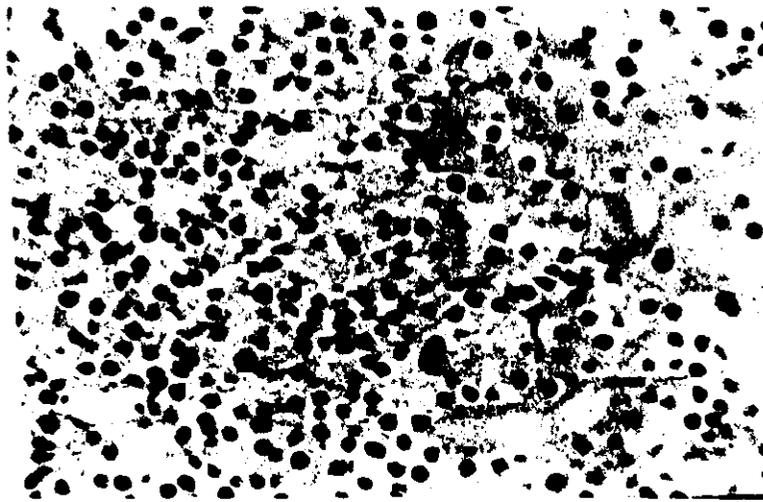


Figura 8. Fotomicrografía de una glándula paratiroidea con hiperplasia teñida con Hematoxilina-Eosina (400x) que muestra la coexistencia de dos poblaciones celulares.