

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Departamento de Citología e Histología
Normal y Patológica

T.D. G-157

**PATRONES DE PLOIDIA Y DE
TEXTURA NUCLEAR EN EL
DIAGNOSTICO DEL
HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO**

Tesis Doctoral

HUGO GALERA RUIZ

Sevilla, 1995

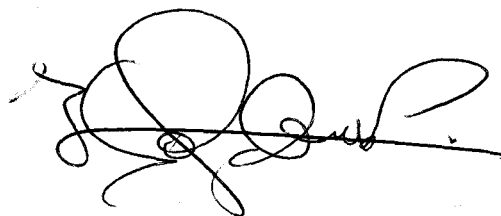
D/D^a **HUGO GALERA RUIZ**

con D.N.I. nº.....**28.722.886**...., autor/a de la Tesis Doctoral titulada **PATRONES DE PLOIDIA Y DE TEXTURA NUCLEAR EN EL DIAGNOSTICO DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO**
....., autoriza la consulta de la citada Tesis según

la/s modalidad/es abajo indicadas:

- Consulta en Sala
- reproducción parcial
- reproducción total
- préstamo a otras bibliotecas

Fdo.:



Sevilla. **26** de **Mayo** de **1995**

2.22.907



FACULTAD DE MEDICINA
D.T.O. DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA
NORMAL Y PATOLOGICA

41009 SEVILLA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Quedan aprobada esta Tesis Doctoral
al número 100 número 262 de
correspondiente a
Sevilla, a 20 de Abril de 1995

PA. El Jefe del Negociado de Tesis,
[Signature]



DON HUGO GALERA DAVIDSON, CATEDRATICO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA GENERAL Y ANATOMIA PATOLOGICA Y DON RICARDO GONZALEZ CAMPORA, PROFESOR TITULAR, AMBOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

CERTIFICAN: Que bajo su dirección y en el Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica, ha sido realizado el trabajo titulado: "**PATRONES DE PLOIDIA Y DE TEXTURA NUCLEAR EN EL DIAGNOSTICO DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO**", por Don **HUGO GALERA RUIZ**, para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que así conste, expiden el presente certificado en Sevilla, a veinte de Abril de mil novecientos noventa y cinco.

[Signature]

[Signature]

[Signature: Hugo Galera]

[Signature]

A G R A D E C I M I E N T O S

Expreso mi gratitud sincera a todos los miembros del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Virgen Macarena y del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica de la Facultad de Medicina, de Sevilla, que de una forma u otra han contribuido a la consecución de este trabajo de Tesis Doctoral. Han sido tantos, y su contribución tan valiosa, que su enumeración sería muy extensa.

No puedo, sin embargo, oscurecer en el anónimo global la contribución realizada por mi padre, el Profesor Hugo Galera Davidson, aplicado patólogo, sin cuya orientación, consejos, actitud siempre positiva y espíritu práctico, no hubiese sido posible finalizar este trabajo. También extendiendo este agradecimiento personalizado al Profesor Ricardo González Cámpora, cuya dirección y ayuda han sido valiosas e imprescindibles.

A mis padres: María Rosa y Hugo

A mi mujer: Lolita

INDICE

	Pág.
	—
I. INTRODUCCION	9
A. GENERALIDADES	10
B. HISTOFISIOLOGIA DE LAS GLAN- DULAS PARATIROIDES	12
C. CONCEPTO DE HIPERPARA- TIROIDISMO PRIMARIO	14
D. HISTOGENESIS DE LAS GLANDU- LAS PARATIROIDES	16
E. ANATOMIA MACRO Y MICROSCO- PICA DE LAS GLANDULAS PARATI- ROIDES	18
F. CONSIDERACIONES HISTORICAS SOBRE EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO	26
G. ANATOMIA PATOLOGICA DEL HI- PERPARATIROIDISMO PRIMARIO	30

H.	PERFIL DIAGNOSTICO DEL ADENOMA DE PARATIROIDES EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO	39
I.	PERFIL DIAGNOSTICO DEL CARCINOMA DE PARATIROIDES	50
J.	PERFIL DIAGNOSTICO DE LA HIPERPLASIA DE PARATIROIDES	53
	1) Hiperparatiroidismo primario	53
	2) Hiperparatiroidismo secundario	57
	3) Hiperparatiroidismo terciario	58
K.	ASOCIACIONES FAMILIARES EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO	59
L.	CITOMETRIA EN PATOLOGIA DE PARATIROIDES	61
M.	CLINICA DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO	65
N.	PRUEBAS DIAGNOSTICAS EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO	72
II.	PLANTEAMIENTO DEL TEMA	82

III.	MATERIAL Y METODOS	85
A.	MATERIAL Y VALORACION	85
B.	METODO CITOMETRICO	88
C.	DENSIDAD OPTICA INTEGRAL	94
IV.	RESULTADOS	99
A.	CLINICOPATOLOGICOS	99
B.	CITOMETRICOS	101
V.	DISCUSION	115
A.	DEL SISTEMA DE ANALISIS DE IMAGEN	115
B.	DE LAS TEXTURAS MARKOVIANAS	123
C.	DE LA PLOIDIA DEL ADN	129
D.	DE LAS CARACTERISTICAS ARQUITECTURALES	132
E.	DE LA CELULARIDAD DE LA LESION	132
F.	CONSIDERACIONES TERAPEUTICAS	133
VI.	CONCLUSIONES	140
VII.	BIBLIOGRAFIA	144

I. INTRODUCCION

El hiperparatiroidismo se descubrió casi simultáneamente en Europa y los Estados Unidos hace poco más de 60 años. El trastorno es el resultado de un aumento inapropiado de la secreción de la hormona paratiroidea (PTH) por parte de una o varias de las glándulas paratiroides. El aumento de la secreción se debe a un defecto en la(s) glándula(s) paratiroidea(s) o a una enfermedad extra-paratiroidea, como una insuficiencia renal crónica o una mala absorción intestinal, que tienda a reducir el calcio en suero, produciendo así una hiperfunción secundaria del paratiroides (hiperparatiroidismo secundario).

A. GENERALIDADES

El hiperparatiroidismo primario es una enfermedad relativamente común que es de dos a tres veces más frecuente en las mujeres que en los hombres. Tras la introducción de la medida rutinaria del calcio en suero, la incidencia anual ajustada a la edad en Rochester, Minnesota, era del 27.7 ± 5.8 por 100 de la población (88). En la mayor parte de los casos la causa del trastorno es desconocida. Recientemente, PRINZ y cols. (157) comunicaron que dos tercios de los pacientes con tumores paratiroideos y tiroideos tenían historial de exposición a radiación. En una minoría de los casos el hiperparatiroidismo primario es un trastorno familiar (hiperparatiroidismo familiar) o un componente de un síndrome de neoplasia endocrina múltiple. El hiperparatiroidismo primario no familiar afecta normalmente a individuos de edad avanzada, mientras que los casos familiares se detectan habitualmente en las décadas tercera y cuarta de la vida. Aunque varios síntomas no específicos se asocian con el hiperparatiroidismo, la mayor parte de los pacientes son asintomáticos, y el trastorno se identifica examinando el calcio en suero.

El hiperparatiroidismo primario no es normalmente una enfermedad grave. Se debe remediar con una sola operación quirúrgica, cuyo objetivo es conseguir una curación duradera de la hipercalcemia y evitar una hipocalcemia postoperativa permanente. A veces aparecen complicaciones de mayor o menor importancia durante el curso del tratamiento, ocasionalmente debidas a una operación excesiva como resultado de una interpretación errónea de la patología. Raramente no se encuentra la causa del trastorno en la primera operación, y se hace necesaria otra (u otras) operación(es). Es interesante recordar que en el primer paciente operado de hiperparatiroidismo primario en los Estados Unidos -ésto fue en 1926- hicieron falta siete operaciones para encontrar finalmente su tumor paratiroideo mediastínico.

Con objeto de alcanzar una curación permanente, los médicos (internista, radiólogo, cirujano y patólogo) implicados deben estar bien informados de los posibles errores en el diagnóstico y tratamiento del hiperparatiroidismo y estar preparados para cooperar e interaccionar estrechamente. Es bueno que todos los interesados tengan en mente el principio Hipocrático primum non nocere, porque pueden derivar graves efectos adversos -el más importante, hipoparatiroidismo permanente- de

un celo excesivo en el tratamiento. Por ello, el abordaje del diagnóstico patológico del hiperparatiroidismo recomendado actualmente es pragmático y está dirigido a alcanzar un resultado satisfactorio para el paciente más que a obtener una precisión patológica absoluta. Este abordaje no pretende ahogar el interés por la nosología y la patogénesis de la hiperfunción del paratiroides, de las cuáles aún queda mucho que aprender.

B. HISTOFISIOLOGIA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES

Para que los patólogos puedan analizar las muestras de paratiroides adecuadamente, es útil tener conocimiento de algunos aspectos de la homeostasis del calcio, de la embriología, anatomía e histología de las glándulas paratiroides normales. Por ello, estas cuestiones se revisan brevemente a continuación.

Hacen falta cantidades adecuadas de calcio iónico para una amplia gama de procesos de la célula, que incluyen a la división celular, la contracción muscular y la secreción. La concentración de calcio en el fluido extracelular se mantiene normalmente entre unos márgenes

estrechos; las desviaciones en una u otra dirección no son bien toleradas y, si son grandes, pueden amenazar a la propia vida.

La entrada de calcio por la dieta se compensa normalmente con la pérdida por la orina. El mantenimiento de las concentraciones de calcio adecuadas en el fluido extracelular requiere dos hormonas, la PTH y el 1,25-dihidroxicolecalciferol, un derivado de la vitamina D. La PTH es secretada por las células principales de las paratiroides y facilita la transferencia de calcio al fluido extracelular promoviendo la movilización del calcio de los huesos. Además, estimula la formación de 1,25-dihidroxicolecalciferol en el riñón y causa de forma indirecta la incorporación intestinal de calcio y fosfato y su reabsorción por el riñón. La secreción de la PTH está regulada por el nivel de calcio en el suero a través de un mecanismo de retroalimentación negativa: bajos niveles de calcio estimulan la secreción de la PTH y altos niveles de calcio la inhiben.

La concentración total de calcio en la sangre es casi el doble que en el fluido intersticial, ya que el calcio se une ávidamente a la albúmina y a otras proteínas circulantes. El contenido total de calcio en el plasma

sanguíneo es normalmente unos 10 mg/dL, pero sólo la fracción iónica parece estar regulada. Cuando la concentración extracelular de calcio es baja (hipocalcemia), la excitabilidad eléctrica de las membranas celulares aumenta, llevando finalmente a la contracción involuntaria del músculo esquelético (tetania). En la situación contraria, hipercalcemia, pueden llegar a precipitar las sales de calcio en solución debido a su baja solubilidad a pH fisiológico. En el riñón con frecuencia se forman cálculos, que causan infección, daños en el riñón y por último insuficiencia renal. Durante una hipercalcemia severa prolongada, aparece la calcificación metastásica y la precipitación de sales de calcio en las paredes de las arterias y de los alveolos pulmonares y en la mucosa del fundus gástrico.

C. CONCEPTO DE HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

En el hiperparatiroidismo primario, una o más glándulas paratiroides secretan cantidades excesivas de PTH, lo que produce hipercalcemia por los mecanismos anteriormente descritos. Sin embargo, el fenómeno de la hipercalcemia tiene muchas causas además del hiperparatiroidismo (Tabla 1). Por ello, el diagnóstico del

Tabla 1

CAUSAS DE HIPERCALCEMIA

COMUN	POCO COMUN
CANCER CON O SIN METASTASIS OSEAS	LEUCEMIA
TERAPIA CON TIACIDAS	HIPERTIROIDISMO
MIELOMA	MIXEDEMA
SARCOIDOSIS	CRISIS ADISONIANAS
HIPERVITAMINOSIS D	INMOVILIZACION
SINDROME DE LECHE-ALCALINO	FASE DIURETICA DE DAÑO TUBULAR RENAL
	HIPERCALCEMIA IDIOPATICA DE LA INFANCIA
	ACROMEGALIA

hiperparatiroidismo se hace tras la exclusión de estos otros trastornos y tras encontrar niveles elevados de PTH en el plasma sanguíneo. En la práctica, la presencia simultánea de hipercalcemia, hipofosfatemia e hipercalciuria sugiere un hiperparatiroidismo primario. La sintomatología derivada de la hipercalcemia implica a muchos órganos y sistemas (Tabla 2).

D. HISTOGENESIS DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES

Existe la idea generalizada de que las glándulas paratiroides se desarrollan a partir de los sacos branquiales primitivos y que, por tanto, tienen un origen endodérmico (73). Esta idea ha sido cuestionada recientemente y se ha propuesto que las glándulas tienen un origen ectodérmico o, más específicamente, neuroectodérmico (151). De acuerdo con la descripción clásica, el par superior de glándulas (paratiroides IV) se desarrolla a partir del cuarto saco branquial, al igual que el primordio del tiroides lateral. Estas estructuras permanecen asociadas durante el desarrollo, de ahí la proximidad de las glándulas superiores al tiroides y la alta probabilidad de que una glándula paratiroidea intratiroidea sea una glándula superior (que haya quedado atrapada

Tabla 2

MANIFESTACIONES CLINICAS DE HIPERCALCEMIA

GASTROINTESTINAL	ANOREXIA, ESTREÑIMIENTO, NAUSEAS, VOMITOS, ULCUS PEPTICO, PANCREATITIS AGUDA.
GENITOURINARIA	POLIURIA, NEFROCALCINOSIS, CALCULOS RENALES, INSUFICIENCIA RENAL, POLIDIPSIA.
NEUROLOGICA	FATIGA, DEBILIDAD MUSCULAR, DEPRESION DE REFLEJOS TENDINOSOS, DESORIENTACION, ESTUPOR, COMA.
PSIQUIATRICA	APATIA, DEPRESION.
CALCIFICACION METASTASICA	QUERATOPATIA OCULAR, NEFROCALCINOSIS, CALCIFICACION VASCULAR, CALCIFICACION PERIARTICULAR, CONDROCALCINOSIS.

presumiblemente entre los rudimentos del tiroides lateral y medio al fusionarse éstos).

El par inferior de glándulas paratiroides (paratiroides III) y el timo proceden del tercer saco branquial. Los dos órganos descienden por el cuello y permanecen asociados en el 50% de los casos, aproximadamente, con la glándula paratiroidea localizada dentro de una extensión cervical del timo a la entrada del tórax. La paratiroides puede descender al mediastino anterior y llegar a emigrar hasta el pericardio. Es raro que el timo y la glándula inferior permanezcan en la parte alta del cuello. Las glándulas supernumerarias que se asocian frecuentemente a un lóbulo del timo son probablemente el resultado de la subdivisión del paratiroides III durante su descenso embrionario.

E. ANATOMIA MACRO Y MICROSCOPICA DE LAS GLANDULAS PARATIROIDES

Las glándulas paratiroides, que son normalmente cuatro, se encuentran en la parte inferior del cuello, en la parte posterior de la glándula tiroidea. En un estudio de 352 casos, ALVERYD (4) encontró

cinco glándulas paratiroides en el 3.5%, cuatro en el 90.8%, tres en el 5.1% y dos en el 0.6%. En sólo uno de los casos con dos o tres glándulas paratiroides el peso combinado de las glándulas era suficiente como para sugerir que no se había pasado por alto ninguna. La conclusión es que en casi todos los casos aparecen cuatro o más glándulas paratiroides. Las glándulas se distribuyen en dos pares, un par superior y un par inferior. El primero se encuentra en la unión cricotiroidea en posición posterior (aproximadamente el 75% de los casos) o detrás del polo superior de la glándula tiroidea (aproximadamente el 20% de los casos). Ocasionalmente están detrás de la unión faringoesofágica (198). Deben encontrarse dentro de la zona delimitada por el borde superior de la laringe y el borde inferior de la glándula tiroidea. La posición de las glándulas paratiroides inferiores es más variable, pero se sitúan normalmente en algún punto entre el polo inferior del tiroides y el timo. En un 40% de los casos aproximadamente, el par inferior se encuentra sobre la superficie anterior o posterior del polo inferior de la glándula tiroidea, y en otro 40% están incluidos en una lengua cervical del timo en la parte inferior del cuello. Sin embargo, como se ha indicado anteriormente, se pueden encontrar tan altas como la bifurcación de la

arteria carótida o en una posición considerablemente lateral respecto al polo inferior de la glándula tiroidea o tan bajas como el pericardio.

Es bueno recordar que las glándulas paratiroides hipertróficas pueden estar desplazadas caudalmente. Las glándulas paratiroides superiores están en posición anterior respecto a la fascia tiroidea y tienden a migrar inferiormente a lo largo del surco traqueoesofágico hacia el mediastino posterior. Las glándulas paratiroides inferiores se encuentran en posición posterior respecto a la fascia tiroidea y pueden desplazarse hacia el mediastino anterior o posterior.

El color de las paratiroides normales varía con la cantidad de grasa del estroma, que aumenta con la edad. Antes de la pubertad las glándulas contienen poco o nada de grasa y son de color marrón rojizo; en individuos mayores, las cantidades crecientes de estroma graso (tanto como el 30% o más) producen un aspecto marrón amarillento característico. En contraste, las estructuras adyacentes tienen un color ligeramente diferente; el tejido del tiroides es más rojo, los ganglios linfáticos son más pálidos y más rosados y el timo es de color amarillo grisáceo apagado.

Las glándulas paratiroides son blandas y flácidas; por ello tienden a estar moldeadas por las estructuras adyacentes. Esta es la razón de sus variadas formas y dimensiones. Por lo general, las glándulas son ovales con márgenes redondeados, pero pueden estar aplanadas y tener márgenes agudos si las estructuras adyacentes las presionan (ésto ocurre cuando se localizan bajo la cápsula de la glándula tiroidea). Las características de la consistencia son útiles para distinguirlas de los ganglios linfáticos o nódulos tiroideos, que son más firmes y elásticos.

Por término medio, las glándulas paratiroides miden 5 x 3 x 1 mm y pesan 35-45 mg. La masa paratiroidea total (parénquima y estroma) pesa sólo 5-9 mg en el nacimiento y aumenta hasta la tercera o cuarta década en que el peso es de unos 120 y 130 mg en los hombres y las mujeres respectivamente; el peso total de las células del parénquima es de 85 y 90 mg en los hombres y las mujeres respectivamente (1, 158). Los pesos de las glándulas son menores en pacientes con enfermedades crónicas, en los hombres son menores que en las mujeres y en los blancos son menores que en los negros (55). Los pacientes obesos tienen menos células adiposas de lo normal para su edad, mientras que los

pacientes que presentan emaciación tienen menos (1). Por lo general, las glándulas paratiroides tienen aproximadamente el mismo tamaño y peso, pero a menudo una de ellas es más pequeña que las otras tres. En algunos casos dos de las glándulas son claramente más pequeñas que las otras (62) La masa paratiroidea total depende directamente de la cantidad total de tejido adiposo del cuerpo. Por tanto, es la cantidad de tejido adiposo del estroma en la glándula paratiroidea y no la cantidad de parénquima la que se correlaciona positivamente con el tamaño (masa) de las glándulas. De todas formas, el peso de una glándula paratiroidea es un índice bueno y sencillo de masa celular del parénquima. Claramente, una determinación exacta del peso de las células del parénquima tendría un valor diagnóstico mayor (1), pero esta medida no es práctica para el diagnóstico rutinario.

El parénquima paratiroideo está englobado en una cápsula muy delgada y fibrosa. En los niños, la glándula se compone de capas uniformes y cordones de células epiteliales en un estroma que contiene pocas células adiposas maduras. Después de la pubertad, el contenido en tejido adiposo del estroma aumenta progresivamente. En tiempos pasados, una interpretación errónea del estudio clásico de GILMOUR

y MARTIN (72) llevó a la creencia (39) de que hay más grasa en el estroma de la glándula de la que de hecho hay; hasta hace poco se consideraba normal en adultos una proporción de grasa de 50:50 entre el parénquima y el estroma. Algunos estudios recientes han puesto en evidencia que las tres cuartas partes de las glándulas paratiroides de individuos adultos tienen menos del 30% de grasa, y la mitad tienen menos del 10% (49, 54). Así, en las glándulas de muchas personas normales de edad avanzada hay una cantidad relativamente baja de grasa en el estroma -la proporción de grasa entre parénquima y estroma puede ser de 90:10-. Este hallazgo aumenta la dificultad diagnóstica de una hiperplasia del paratiroides mínima en glándulas de tamaño normal o ligeramente hipertrofiadas.

En la glándula paratiroides se encuentran fundamentalmente dos tipos de células epiteliales: células principales y células oxífilas (con varias formas intermedias). Las células principales son redondas o poligonales, con límites bien definidos, de 6-10 μ de diámetro y con núcleo central y picnótico y nucleolos inconspicuos. Una ligera eosinofilia citoplásmica permite su separación en una minoría de células con citoplasma teñible (células principales oscuras) y otras células cuyo

citoplasma permanece claro o ligeramente teñido y contiene glucógeno (células principales claras). Las células principales claras son más abundantes; sin embargo, son las células principales oscuras las que sintetizan y secretan la PTH.

Se cree que las células principales claras, cuya débil tinción revela una escasez de orgánulos citoplásmicos, son inactivas; con frecuencia tienen una zona clara yuxtannuclear esférica o semilunar que es el residuo de un orgánulo lipídico disuelto durante el procesado del tejido (170). Este cuerpo, que mide $0.5-1.5\mu$ se puede visualizar claramente en secciones congeladas y teñidas con Sudán IV (teñido positivamente de color naranja) o con azul de metileno polícromo (teñido negativamente y refráctil). Este orgánulo es importante, ya que marca a las células paratiroides que están en reposo o suprimidas. El uso de tinciones alcohólicas, el montaje de las secciones en un medio que solubiliza las grasas y los protocolos rutinarios de deshidratación eliminan los gránulos sudanofílicos de las secciones de tejidos.

Las células oxífilas aparecen hacia el final de la infancia y aumentan de número con la edad. En las personas de edad avanzada

forman capas irregulares o pequeños nódulos, o están esparcidas al azar por la glándula. Son típicamente células grandes (hasta 20 μ de diámetro) con un citoplasma eosinofílico y finamente granulado y un núcleo central. Son frecuentes las formas de transición entre las células principales y las oxífilas (células oxífilas de transición), de tamaño y características de tinción del citoplasma intermedios. Se cree que las células oxífilas no son funcionales.

En teoría cabría esperar que la hipercalcemia causara la atrofia de las glándulas paratiroides normales, es decir, un descenso en el peso de las glándulas acompañado de una disminución del tamaño y número de células del parénquima. Sin embargo no se observa esta atrofia. En vez de esto, las glándulas paratiroides mantienen su tamaño normal mientras que un número variable de células del parénquima (hasta el 25%) sufren un cambio histológico evidente (56) aumentan de tamaño, su citoplasma se vuelve claro y vacuolado y se disponen según un patrón trabecular con núcleos en empalizada en la periferia. Estos cambios histológicos no se deben interpretar como una hiperplasia del paratiroides. En teoría, esta alteración debería ocurrir también en el reborde comprimido de paratiroides "normal" que aparece en la periferia

de al menos algunos adenomas de paratiroides, pero nunca se ha descrito.

F. CONSIDERACIONES HISTORICAS SOBRE EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

La primera resección de un adenoma de paratiroides responsable de hiperparatiroidismo primario la realizó Félix MANDL (121) en Viena en 1926. Tres años después Russell WILDER (207) extirpó el primer "adenoma maligno" (tras revisarlo, resultó ser un carcinoma de paratiroides) funcional en la Clínica Mayo. En menos de una década tras la comunicación inicial de Mandl se han presentado más de 100 casos de hiperparatiroidismo; la mayor parte debidos a un sólo adenoma funcional, con menos frecuencia a dos adenomas y excepcionalmente a un carcinoma.

En 1934, Fuller ALBRIGHT y cols. (3) en el Massachusetts General Hospital de Boston, comunicaron tres casos de hiperparatiroidismo primario en los que las cuatro glándulas estaban hipertróficas. Se trataba de una nueva entidad cuyas características

microscópicas incluían una uniformidad de estructura, células enormes y un citoplasma extremadamente claro. A esta condición se la denominó hiperplasia de "water-clear cell" o "wasserhelle cell" (células "claras como el agua"). Las glándulas afectadas eran fáciles de distinguir macroscópica y microscópicamente de los adenomas habituales y de las glándulas asociadas a una hiperplasia secundaria, condición ésta que era bien reconocida en aquella época (38). Posteriormente, otros autores también hicieron aportaciones sobre la hiperplasia de células "claras como el agua", pero por razones desconocidas esta condición desapareció hace unos 30 años.

En 1958 COPE y cols. (46) en el Massachusetts General Hospital describieron un tercer tipo de hiperplasia que afectaba a todas las glándulas; la llamaron "hiperplasia de las células principales". El trastorno aparecía en el 10% de sus 200 primeros pacientes de hiperparatiroidismo primario. Era la causa más común de hipertrofia de paratiroides en los pacientes con adenomatosis endocrina múltiple (denominada normalmente "neoplasia endocrina múltiple") y en los pacientes con hipertrofia no familiar de múltiples glándulas paratiroides.

Macroscópica y microscópicamente no se podía distinguir una glándula individual con hiperplasia de células principales del habitual adenoma.

En 1966, COPE (47) escribió: "La única forma en que el cirujano puede estar seguro (de si está trabajando con un adenoma de paratiroides o una hiperplasia de células principales) es ver al menos dos glándulas. Si una es normal y la otra es hipertrófica la hiperplasia es presumiblemente una neoplasia, sea un adenoma o un carcinoma. Si las dos son hipertróficas, presumiblemente las dos son hiperplásicas". Posteriormente, en base a la frecuencia relativamente alta de hiperplasia de células principales y a la autoridad de COPE, se fue aceptando gradualmente que si dos (o tres) glándulas paratiroides estaban hipertróficas el trastorno era una hiperplasia de células principales y afectaba a las cuatro glándulas, estando implicadas de forma desigual (a veces sólo microscópicamente) otras glándulas más pequeñas o de tamaño normal.

Este abordaje diagnóstico adquirió una importancia progresivamente mayor en los años 70 cuando una serie de grupos influyentes de los Estados Unidos llegaron a la conclusión de que había

muchos más casos de hiperplasia de células principales de los que se había supuesto anteriormente -se le atribuyeron hasta un 65% de los casos de hiperparatiroidismo primario (62, 142, 146). La base de esta afirmación era que muchos casos que presentaban hipertrofia de una o dos glándulas parecían mostrar evidencia microscópica de una hiperplasia en especímenes de biopsia de glándulas de tamaño aparentemente normal. Claramente, esta interpretación podía tener consecuencias considerables, dado que los casos de hiperplasia de células principales se trataban mediante paratiroidectomía subtotal (eliminación de tres glándulas y media) o paratiroidectomía total con autotransplante de tejido paratiroideo, procedimientos drásticos que conllevan un riesgo alto de hipoparatiroidismo postoperatorio permanente. En los trabajos mencionados, el diagnóstico de hiperplasia se basaba a menudo en la observación de una proporción de grasa entre el parénquima y el estroma mayor de 50:50 (proporción que en aquella época se pensaba que era normal para un adulto pero que, como ya se ha comentado, hoy se sabe que refleja un contenido en el parénquima más bajo de lo normal) y de un peso de la glándula superior a los 40 mg. Por tanto, el diagnóstico de hiperplasia de células principales es cuestionable en algunas series antiguas; es probable que muchas de las glándulas así

interpretadas fueran normales. Pero en base de la hipertrofia de una o dos glándulas paratiroides y la evidencia microscópica de "hiperplasia" en otras glándulas se aconsejaba la paratiroidectomía subtotal (29). La justificación de una operación tan potencialmente peligrosa era que habría recurrencia si no se eliminaba la mayor parte del parénquima paratiroideo. El resultado en los pacientes tratados de esta manera fue una mayor incidencia de hipoparatiroidismo postoperatorio permanente (28, 36). Más recientemente se ha aceptado la aparición de adenomas en dos o tres glándulas como un hecho ocasional (16, 83).

G. ANATOMIA PATOLOGICA DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

Los patólogos deben ser conscientes de las consecuencias del sobrediagnóstico de hiperplasia microscópica, debida a una mala interpretación de la proporción de grasa entre parénquima y estroma, de pequeños "aumentos" de peso de una sola glándula paratiroidea o de ambas circunstancias. La mayor parte de los cirujanos son ya conscientes de las graves secuelas de un sobretratamiento en los casos en que la hiperplasia es sólo "microscópica". La vuelta a los niveles

normales del calcio en suero tras un tratamiento quirúrgico satisfactorio del hiperparatiroidismo es gratificante, pero el desarrollo un hipoparatiroidismo postoperatorio permanente tras un sobretreatmento quirúrgico (posiblemente influido por una mala interpretación de la patología) es una tragedia.

Las neoplasias e hiperplasias de las glándulas paratiroides que causan hiperparatiroidismo son las que provocan la mayoría de las operaciones de paratiroides. La experiencia ha demostrado que estos trastornos son por lo general tratados con éxito eliminando la(s) glándula(s) hipertrófica(s) y dejando las glándulas de tamaño normal intactas. Por tanto, por lo que respecta a la terapia, la importancia de una catalogación patológica intraoperatoria precisa de las glándulas paratiroides hipertróficas como un "adenoma" o una "hiperplasia" ha disminuido. Desde este punto de vista práctico, el papel tradicional del patólogo como árbitro del diagnóstico final de "adenoma" o "hiperplasia" ha perdido importancia. De todas maneras, el patólogo es aún un miembro importante del equipo que trata a los pacientes con actividad excesiva de la paratiroides.

A continuación vamos a describir el papel del patólogo quirúrgico, como miembro del equipo responsable del tratamiento de los pacientes de hiperparatiroidismo, según el protocolo utilizado en la Clínica Mayo. En una habitación adyacente al quirófano se encuentra un laboratorio dedicado a la preparación de cortes por congelación y el equipo de patología tiene fácil acceso a la información clínica preoperatoria e intraoperatoria. La técnica de cortes por congelación permite la preparación (congelado, corte, tinción y montaje) de 1 sección por minuto, lo cual es ideal para examinar múltiples especímenes rápidamente. El trabajo del equipo de patología comienza con la revisión preoperatoria de las bases del diagnóstico del hiperparatiroidismo y los resultados de los tests de localización. Continúa con el seguimiento intraoperatorio, evaluación y catalogado del tejido extirpado durante la operación y la consulta con el cirujano mediante un sistema de intercomunicación, o si fuera necesario, una visita al quirófano. El trabajo del patólogo incluye la correlación postoperatoria del diagnóstico patológico con el nivel de calcio en suero del paciente y la posterior discusión con el cirujano, si es necesario.

Los niveles de calcio y PTH en suero son de interés, dado que hay una cierta correlación entre la magnitud del aumento de estas sustancias y la masa de tejido paratiroideo anormal que probablemente se encuentre en la operación. Es improbable que un aumento mínimo de niveles de calcio en suero se asocie a una enfermedad paratiroidea masiva. En contraste, unos niveles de calcio en suero que excedan los 13 mg/mL y un aumento sustancial de la PTH en suero se asocian normalmente con una cantidad de tejido paratiroideo anormal que se puede medir en gramos en vez de miligramos, o bien con un carcinoma de paratiroides. Sin embargo, si el calcio en suero es muy alto y la PTH en suero sólo ha aumentado ligeramente, existe la posibilidad de un tumor maligno no paratiroideo que produzca una sustancia similar a la PTH u otra sustancia hipercalcémica (hiperparatiroidismo ectópico) (154). Si se ha palpado un tumor paratiroideo durante el examen físico el paciente posiblemente tiene un carcinoma (192).

Los informes médicos de pacientes deben revelar si la operación es primaria o si es una reexploración debida a un hiperparatiroidismo persistente o recurrente tras una aparente curación. Una operación previa debida a un trastorno endocrino o una historia familiar de: 1)



Enfermedades del paratiroides (hiperparatiroidismo familiar) (120), 2) Tumores en la hipófisis, en los islotes pancreáticos o en ambos (neoplasia endocrina múltiple, tipo 1) (202), o 3) Carcinoma medular de tiroides, feocromocitoma o ambos (neoplasia endocrina múltiple, tipo 2) (186), deben ser significativas. Si se ha dado alguna de estas condiciones en el paciente o su familia, la situación patológica implica probablemente a múltiples glándulas paratiroides.

En ocasiones incluso los cirujanos con experiencia pueden tomar por tejido paratiroideo pequeños lóbulos de grasa (particularmente si están decolorados por una hemorragia), ganglios linfáticos, restos del timo o nódulos exofíticos del tiroides. Por eso es recomendable examinar con la técnica de cortes por congelación todas las muestras extraídas en una paratiroidectomía para su identificación.

El cirujano debe identificar la localización anatómica de las muestras de paratiroides entregados para su examen patológico. Específicamente, se debe identificar el tejido paratiroideo resecaado como de la glándula izquierda o derecha y superior o inferior, y si es una glándula paratiroides completa o una muestra para biopsia. Esto es

particularmente importante si no se encuentra una anomalía en las paratiroides en la primera operación y es necesaria una segunda operación, quizás con un cirujano diferente. El examen macroscópico de las muestras que han sido entregadas como tejido paratiroideo o tumores de paratiroides resulta a menudo informativo. Los adenomas de paratiroides normalmente se separan fácilmente de su lecho adiposo. Su aspecto es el de lesiones discretas, ovales, ligeramente aplanadas, de color oscuro y con una cápsula delgada y brillante. Las glándulas hiperplásicas tienen un aspecto similar, pero son con frecuencia más lobuladas o nodulares. Un tumor con una cápsula gruesa y fibrosa, circunscripción pobre o aspecto invasivo sugiere la posibilidad de un carcinoma de paratiroides.

Cada glándula es medida y pesada (con una aproximación de 5 mg) después de eliminar el tejido extraño, normalmente grasa. Un exceso de sangre o humedad se elimina colocando las muestras sobre papel de filtro antes de pesarlas. Las glándulas paratiroides que pesen 60 mg o más se considerarán anormales siempre que el cirujano haya identificado otras tres de tamaño normal (169). El tejido eliminado debe pesarse también, ya que el examen histológico posterior puede revelar que era

tejido paratiroideo con un contenido en tejido adiposo engañosamente alto. A menudo el tejido de aspecto graso es timo, observación ésta que se debe comunicar al cirujano, ya que identifica la glándula eliminada como una de las inferiores y puede, por tanto, influir en la búsqueda de la otra glándula en esa zona. La labor habitual del patólogo ha sido la de distinguir el adenoma de paratiroides de la hiperplasia de paratiroides (27). La distinción entre las dos situaciones se complica y a menudo se frustra por el solapamiento de algunas de sus características patológicas. Se hace difícil porque el aspecto macroscópico de las glándulas restantes, del cual depende en gran medida el diagnóstico, es normalmente desconocido para el patólogo en el momento del examen microscópico de la primera glándula extirpada. Además, la presencia de un reborde procedente de la glándula original puede no ser evidente en la preparación al haber quedado éste excluido involuntariamente por el plano de sección.

Por lo que respecta a la terminología, se ha adoptado una aproximación arbitraria y pragmática: se designa "adenoma" a la hipertrofia de una sola glándula en asociación con tres glándulas de tamaño normal, incluso si en el examen microscópico la glándula

hipertrófica tiene algo de estructura nodular o contiene una cantidad mínima de grasa en el estroma (características ambas de la hiperplasia). Por otra parte, si todas las glándulas están hipertróficas, el trastorno se considera hiperplasia, independientemente del aspecto microscópico de las glándulas, aunque una o más de las mismas parezcan un adenoma. Si dos o tres glándulas están hipertróficas, se puede hacer un diagnóstico descriptivo o un diagnóstico de múltiples adenomas o de hiperplasia, dependiendo de lo que se encuentre. No hay peligro de que ocurra un malentendido y, por consiguiente, un tratamiento excesivo si se hace el diagnóstico de "hiperplasia de células principales", dado que los cirujanos son conscientes de la dificultad de separar histológicamente el adenoma de la hiperplasia. Estos se apoyan fuertemente en las observaciones operatorias macroscópicas para decidir la cantidad de tejido paratiroideo que deben resear.

Después de estudiar una glándula paratiroidea hipertrófica y llegar a la conclusión de que tiene los atributos morfológicos de un adenoma de paratiroides (a resumir) , se debe comunicar nuestra opinión al cirujano. Sin embargo, debemos estar preparados para oír (en ocasiones) que una, dos o las otras tres glándulas están hipertróficas.

Este hecho es infrecuente ya que aproximadamente el 85% de los casos de hiperparatiroidismo primario están causados por la hipertrofia de una sola glándula. También puede darse la situación recíproca: una glándula paratiroidea hipertrófica puede tener aspecto lobulado o nodular. Esto sugiere un diagnóstico de hiperplasia nodular de células principales, diagnóstico que se hace insostenible si el cirujano indica que las otras tres glándulas tienen tamaño normal y las biopsias muestran que son normales.

La descripción microscópica de una glándula paratiroidea claramente hipertrófica incluye la detección de la presencia o no de un único nódulo tumoral desprovisto de células grasas maduras y con células sin lípidos citoplásmicos (en principio, un adenoma), o si hay múltiples nódulos, varios de los cuales pueden contener algunas células adiposas maduras (provisionalmente, una hiperplasia). Se debe comprobar la situación de la glándula original, si está presente en la sección. Una glándula original comprimida en forma semilunar con células pequeñas que contienen cuerpos lipídicos citoplásmicos (se ven fácilmente en secciones congeladas frescas teñidas con azul de metileno o azul de toluidina), con una pseudocápsula o una cápsula fibrosa que

la separa de la masa patológica de células del paratiroides es una buena evidencia de que la lesión es un adenoma. Pero, como se indica más adelante, el reborde de la glándula original puede ser normal o hiperplásico en un adenoma, puede no aparecer una cápsula fibrosa entre el nódulo y la glándula original y las células tumorales pueden contener ocasionalmente diversas cantidades de lípido intracitoplásmico. Si el tumor se ha extendido a través de su cápsula para invadir la grasa circundante, el músculo o el tiroides, es un carcinoma.

H. PERFIL DIAGNOSTICO DEL ADENOMA DE PARATIROIDES EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

La evaluación de una biopsia de paratiroides incluye:

1) Determinación exacta del peso de la muestra (si el cirujano indica la proporción de glándula o de lesión que representa la biopsia, se puede estimar su peso aproximado).

2) Confirmación microscópica de que la muestra es tejido paratiroideo.

3) Estimación de la proporción de grasa entre el parénquima y el estroma.

4) Detección de un patrón nodular en el parénquima.

5) Búsqueda de características citológicas e histológicas asociadas a hipercalcemia mencionadas anteriormente, y

6) Estimación del porcentaje aproximado de células epiteliales con grandes gotas lipídicas intracitoplásmicas.

La presencia de gotas de lípidos citoplásmicos en la mayoría de las células epiteliales y una cantidad modesta de grasa en el estroma sugieren que la glándula es normal. Sin embargo, las células parenquimatosas que tienen pocos gránulos lipídicos intracitoplásmicos y se organizan en nódulos sugieren que la glándula es anormal y probablemente hiperplásica. Tras hacer un diagnóstico con cortes por congelación, las muestras se marcan convenientemente y se sumergen en formaldehído tamponado al 10% para su posterior procesado y realización de cortes permanentes. Tras un muestreo apropiado de un

tumor grande, el tejido sobrante se puede usar para producir anticuerpos frente a la PTH humana para realizar radioinmunoensayos.

En 1978, WANG y RIEDER (199) introdujeron el denominado "Test de densidad" para distinguir entre las glándulas paratiroides normales y anormales como ayuda intraoperatoria auxiliar en el diagnóstico. El test se basa en el hallazgo de un contenido bajo o nulo de grasa en el estroma y de gránulos de grasa intracelulares en las glándulas paratiroides enfermas. Mientras que el tejido paratiroideo normal flota en una solución de manitol con una densidad comprendida entre 1.049 y 1.069, el tejido anormal (adenoma o hiperplasia) se hunde. Esta técnica, así como la "cytologic imprints" (181) (huellas citológicas), para la evaluación intraoperatoria de las enfermedades del paratiroides, no son de uso habitual.

El éxito o fracaso de un tratamiento quirúrgico del hiperparatiroidismo primario se puede calibrar midiendo postoperatoriamente el nivel de calcio en suero. La recuperación del nivel de calcio en suero hasta unos niveles normales permanentes (frecuentemente tras una hipocalcemia transitoria debida al "hambre" de

calcio de los huesos) indica el éxito de la operación. Si la evaluación final de la patología es de hiperplasia de células principales, el diagnóstico debe discutirse con el cirujano en términos de una posible asociación de la enfermedad con el síndrome de neoplasia endocrina múltiple o de origen familiar.

En un pequeño número de pacientes la hipercalcemia persiste. Esto puede ser debido a:

1) Falta de localización por parte del cirujano de un adenoma de paratiroides cervical o ectópico.

2) Fallo del cirujano a la hora de eliminar la cantidad adecuada de tejido paratiroideo de un paciente con hiperplasia de células principales que implica desproporcionadamente a una glándula, de manera que simula un adenoma.

3) Diagnóstico erróneo de hiperparatiroidismo primario en un paciente con hipercalcemia familiar benigna, condición que no se corrige con una paratiroidectomía subtotal.

Con muy baja frecuencia, el nivel de calcio en suero puede disminuir postoperatoriamente desde un nivel preoperatorio alto a otro más bajo, pero aún anormal, para producirse en los siguientes meses un aumento progresivo hasta los niveles preoperatorios. Estas observaciones sugieren la recurrencia de un carcinoma de paratiroides.

De 153 pacientes con hiperparatiroidismo persistente (34), en el 60% de los casos la causa era un adenoma del paratiroides no localizado en la primera operación, en el 32% hiperplasia de paratiroides, en el 3% carcinoma de paratiroides y en el 5% otras causas no paratiroides. El hiperparatiroidismo recurrente verdadero es mucho menos común que el hiperparatiroidismo persistente. Los criterios (131) que se han propuesto para identificar estos casos incluyen:

1) Identificación histológica por biopsia de todas las glándulas paratiroides en la primera operación.

2) Eliminación total de la(s) glándula(s) hipertrófica(s).

3) Normocalcemia postoperatoria durante un año al menos.

4) Hallazgo en la reoperación de un tumor en el sitio de una glándula que anteriormente tenía un tamaño normal.

El tejido paratiroideo transplantado raramente prolifera y se hace hiperfuncional hasta causar hiperparatiroidismo recurrente. En un caso excepcional, se transplantó en el antebrazo un tejido, que posteriormente se identificó como carcinoma del paratiroides, y metastatizó en un ganglio linfático axilar (C. S. Feind, comunicación personal).

El adenoma de paratiroides es la causa más habitual del hiperparatiroidismo primario y es responsable del 80-85% de los casos (40, 142). Unos estudios recientes con técnicas de biología molecular (14, 15) han indicado que los adenomas de paratiroides son verdaderas neoplasias: ésto contrasta con otros estudios anteriores (13) que sugerían un origen policlonal. En el momento de la operación una de las glándulas está hipertrofiada y las otras tres son de tamaño normal. El hiperparatiroidismo debido a la hipertrofia de una sólo glándula (adenoma) se cura casi siempre mediante la eliminación de la glándula hipertrófica. De 198 pacientes de hiperparatiroidismo primario tratados de esta manera en la Clínica Mayo, 196 recuperaron el nivel normal de

calcio en suero (158). La neoplasia pesa normalmente de 200 a 1000 mg, pero el rango puede estar entre los 60 mg y los 10 g o más. Macroscópicamente el tumor es discreto, oval o con forma de pera o ligeramente lobulado y a menudo ligeramente aplanado. La superficie externa es suave, brillante, de color que varía de ligeramente tostado a marrón, y presenta una cápsula delgada y transparente. Su consistencia es blanda y flácida. La superficie de corte es sólida y homogénea, de color tostado o marrón y normalmente presenta quistes (simples o múltiples) que contienen un líquido claro o pardusco. Ocasionalmente hay calcificación focal en el tumor o en la cápsula.

Es característica la variabilidad en su histología, tanto dentro del mismo tumor como entre casos diferentes. Un adenoma de paratiroides puede tener al microscopio uno de los siguientes aspectos:

- 1) Un solo nódulo compacto sin grasa citoplásmica ni en el estroma y con o sin un reborde atrófico, normal o hiperplásico de la glándula paratiroidea.

2) Múltiples nódulos compactos con o sin grasa en el estroma y sin restos de glándula normal.

3) Una hipertrofia difusa carente de nódulos con algo de estroma adiposo residual o un estroma fibroso.

Los tumores varían en composición celular, comprendiendo masas de células principales claras y oscuras, células pequeñas "claras como el agua", células oxífilas pequeñas y grandes o mezclas de estos tipos celulares. Ocasionalmente aparecen células columnares y raramente se encuentra un tumor compuesto de células "claras como el agua". Son también raros los adenomas que contienen células fusiformes. El aspecto microscópico a pocos aumentos es de sábanas de células pequeñas y poligonales con núcleo picnótico central y membrana celular remarcable. Los gránulos lipídicos intracitoplásmicos que se ven en las células principales normales están ausentes en las células principales de los adenomas de paratiroides; si aparecen, son menores de lo normal. Las mitosis son infrecuentes y los nucleolos no suelen ser evidentes.

Se pueden encontrar patrones difusos, trabeculares, perivasculares y acinares. Los acinos pueden contener material coloide y aparentar el aspecto del adenoma microfoliular del tiroides. Puede ser difícil distinguir entre éste último y un adenoma de paratiroides, particularmente en secciones congeladas. La presencia inequívoca de tejido tiroideo normal en la periferia del tumor, de degeneración central y edema, calcificación, vasos sanguíneos de paredes gruesas, una cápsula gruesa y fibrosa y la demostración inmunocitoquímica de tiroglobulina son indicativos de neoplasia de tiroides. La presencia ocasional de típicos cuerpos lipídicos intracitoplásmicos de las paratiroides, positividad citoplásmica al PAS (glucógeno), pleomorfismo nuclear y positividad a la técnica de inmunoperoxidasa para PTH sugieren un origen paratiroideo.

No es habitual la presencia de una cápsula diferenciada que separe el tumor del resto de la glándula, pero puede estar presente. Las grandes gotas lipídicas intracitoplásmicas observadas en las tinciones de grasas (se ven en mejor detalle morfológico en secciones congeladas frescas teñidas con azul de metileno o azul de toluidina) son conspicuas en el reborde de la glándula residual. Unas pocas células adiposas

adultas están ocasionalmente focalizadas en el estroma del tumor. Raramente es evidente una alteración mixoidea del estroma. A veces aparecen pequeños acúmulos de linfocitos.

Los cambios degenerativos son frecuentes. La presencia de núcleos turbios, gigantes y atípicos acompañada de ausencia de actividad mitótica detectable es característica del adenoma de paratiroides (especialmente el de tipo oxifílico). La formación de quistes es frecuente. Las hemorragias y su posterior cicatrización pueden dar lugar al desarrollo de una cápsula gruesa y fibrosa, que a veces puede atrapar a células tumorales. Esta aparición no debe interpretarse como una invasión carcinomatosa de la cápsula. En la cápsula y el tumor pueden aparecer calcificación distrófica y granulomas de colesterol, respectivamente.

Como resultado de la larga migración de la glándula paratiroides durante su desarrollo, se pueden encontrar tumores de paratiroides ectópicos, con más frecuencia en el mediastino anterior asociados al timo. Estos tumores se pueden recuperar normalmente mediante la extracción del timo del mediastino durante una exploración cervical. La



rotura del esternón para una exploración mediastínica formal es necesaria en menos del 2% de los casos. Para podersele dar la denominación "intratiroideo", el tumor de paratiroides debe estar completamente rodeado de parénquima tiroideo y no ser simplemente subcapsular, es decir, estar atrapado entre la cápsula tiroidea y el parénquima.

Se han comunicado casos raros de adenomas de paratiroides múltiples (16, 83). Es necesario un seguimiento a largo plazo de estos casos con más de una y menos de cuatro glándulas paratiroides hipertróficas para estar seguros de que no son ejemplos de hiperplasia de células principales con hipertrofia desigual de las glándulas.

Se ha comunicado la aparición esporádica (no familiar) del adenoma de paratiroides con otros tumores endocrinos, incluido el carcinoma papilar del tiroides, el carcinoma intestinal y el feocromocitoma. Queda por determinar si estos hallazgos son verdaderas asociaciones (ésto es, formas raras no familiares de una neoplasia endocrina múltiple) o son producto del azar. La asociación más frecuente es la del adenoma de paratiroides y el carcinoma papilar del

tiroides. Esta asociación se ha atribuido a irradiación cervical en la infancia, pero la combinación se podría explicar de forma igualmente satisfactoria por el hallazgo de dos trastornos relativamente comunes en lugares anatómicamente contiguos.

I. PERFIL DIAGNOSTICO DEL CARCINOMA DE PARATIROIDES

El carcinoma de paratiroides es una causa rara de hiperparatiroidismo primario (aproximadamente el 1% de los casos) (40, 192). Se debe sospechar su presencia cuando hay un tumor palpable en el cuello, los niveles de calcio en suero y de PTH son altos, o si el hiperparatiroidismo recurre varios meses después de una aparente curación quirúrgica inicial. El carcinoma de paratiroides es raramente no funcional (140).

Normalmente en la operación se encuentra un tumor grande y duro, que se adhiere a las estructuras circundantes. Macroscópicamente, la superficie irregular externa sugiere una masa "inflamatoria" o un

tumor invasivo. Es frecuente una cápsula gruesa y fibrosa y a veces se observa necrosis central y calcificación.

Microscópicamente, la cápsula del tumor, de tejido fibroso hialinizado, y las estructuras circundantes están invadidas por células de aspecto monótono carentes de pleomorfismo, pero a menudo con nucleolos evidentes o, más raramente, por masas de células anaplásicas mitóticamente activas. Son frecuentes los septos anchos, fibrosos e hialinizados que se extienden desde la cápsula hacia el tumor y lo separan en masas de células de varios tamaños. Las figuras mitóticas no son numerosas. Aparecen metástasis en el hígado, pulmones, huesos y ganglios linfáticos cervicales. La supervivencia tras cinco años es del 30%. La muerte suele ser debida a fibrilación ventricular causada por la hipercalcemia incontrolada, no por las metástasis tumorales.

Las medidas del ADN nuclear por citometría de flujo y los análisis del ciclo celular han sido útiles para predecir la supervivencia de los pacientes y el potencial maligno de muchos neoplasias. Se ha aplicado esta técnica al estudio de las lesiones de paratiroides (33, 82, 95), pero los resultados no han sido concluyentes. La mayor parte de los

estudios refieren que las células normales del paratiroides son diploides. Entre las neoplasias, aproximadamente el 70% de los carcinomas son aneuploides o tetraploides y el resto son diploides; aproximadamente el 70% de los adenomas son diploides y el resto son aneuploides o tetraploides. Alrededor del 30% de las glándulas que presentan hiperplasia primaria de células principales o hiperplasia secundaria son aneuploides. Por tanto, la aneuploidía y la tetraploidía del ADN pueden estar presentes en muchas anomalías de las paratiroides. Los resultados indican que el análisis por citometría de flujo del ADN nuclear de lesiones paratiroides es de poca utilidad diagnóstica en casos individuales.

El lipoadenoma de paratiroides (hamartoma de paratiroides) es una causa rara de hiperparatiroidismo (40, 200). El tumor puede pesar de 1 a 10 g o más. Macroscópicamente, está circunscrito y encapsulado. La superficie de corte es homogénea, amarilla y a veces lobulada. Microscópicamente se observa una mezcla de células parenquimatosas y células adiposas maduras, representando éstas últimas el 20-90% del área del tumor. Muchas zonas tienen un aspecto indistinguible del de las glándulas paratiroides normales. Las células parenquimatosas son

normalmente del tipo de células principales, pero varían. Las lesiones que se han comunicado han ocurrido fuera del cuello.

J. PERFIL DIAGNOSTICO DE LA HIPERPLASIA DE PARATIROIDES

1) Hiperparatiroidismo primario

La hiperplasia de células principales es causa de, aproximadamente, un 10% de los casos de hiperparatiroidismo (40, 46). El trastorno se trata mediante paratiroidectomía subtotal (resección de tres glándulas y media) o por paratiroidectomía total con autotransplante de una porción de una glándula. Las cuatro glándulas están hipertróficas, aproximadamente por igual en la mitad de los casos. Las glándulas superiores están frecuentemente hipertróficas en un grado mayor que las inferiores, aunque la diferencia no es tan evidente como en los casos de hiperplasia de células "claras como el agua". Las glándulas tienen aspecto liso, brillante, y color de tostado a marrón rojizo. Con frecuencia muestran un aspecto nodular en la superficie externa, en la superficie de corte, o en ambas. Sin embargo, no se puede

confiar en este aspecto para distinguir una glándula paratiroidea hiperplásica de una que contiene un adenoma. Frecuentemente estan presentes uno o múltiples quistes llenos de liquido. El peso total de las glándulas paratiroides hiperplásicas es de 150 mg a 10 g o más.

En los casos de hiperplasia de las células principales completamente desarrollada las células adiposas del estroma son sustituidas casi completamente por capas, cordones o agrupaciones acinares de células. La célula predominante es una célula principal pequeña (6-8 μ) o grande (10 μ) dispuesta en nódulos de tamaño variado, lo que sugiere que hay múltiples focos de crecimiento en vez de uno sólo. Una o varias glándulas pueden ser reemplazadas por grandes masas de aspecto tumoral con algunas células adiposas residuales. Normalmente está presente una mezcla de tipos celulares (principales, oxifílicas pálidas y oxifílicas de transición). Las células suelen carecer del gran gránulo lipídico intracitoplásmico que se observa en las células principales normales. Las células adiposas están presentes en el 40% de las glándulas. Sólo cuando la glándula está macroscópicamente hipertrófica (aumento de masa) y la cantidad de lípido citoplásmico de

las células principales es baja, las cantidades menores de grasa en el estroma son una evidencia adicional de la hiperplasia (50).

La afectación incipiente temprana de una glándula se puede poner en evidencia por la presencia de pequeños islotes esparcidos o de nódulos de células hiperplásicas en una glándula con conservación de la relación habitual entre la grasa del parénquima y del estroma (hiperplasia nodular) de un aumento difuso no nodular de las células del parénquima (hiperplasia difusa). Se pueden ver ambos patrones en glándulas de tamaño normal o glándulas ligeramente hipertróficas. Dado que la proporción de grasa entre parénquima y estroma en las glándulas paratiroides de algunos pacientes de edad avanzada puede llegar a 90:10, no está justificado hacer un diagnóstico de hiperplasia incipiente en base a un bajo contenido de grasa en el estroma de una glándula de peso normal. La paratiroiditis crónica que se asocia raramente con la hiperplasia de paratiroides ha sido interpretada como un fenómeno autoinmune (32).

La paratiromatosis es una condición muy rara que se caracteriza por la presencia de múltiples nódulos de tejido paratiroideo

hiperfuncional esparcidos a lo largo de la parte baja del cuello y el mediastino superior. Suele aparecer tras la rotura y siembra derrame de un adenoma del paratiroides (163) o tras el transplante deliberado de tejido paratiroideo en casos de hiperparatiroidismo primario y secundario (65, 142, 164). Sin embargo, también se ha encontrado acompañando a la hiperplasia de células principales en la operación primaria (142). Algunos han pensado que esta condición representa la propagación de un carcinoma de bajo grado de malignidad.

La hiperplasia de células "claras como el agua" (water-clear cell hyperplasia o wasserhelle-cell hyperplasia) (3, 40) se vio ocasionalmente hasta los años 50, pero hoy día raramente se encuentra o no se encuentra en absoluto. Habitualmente las cuatro glándulas eran hipertróficas. Típicamente, estaban abultadas y a menudo hipertrofiadas simétricamente a los lados izquierdo y derecho, pero las glándulas inferiores y superiores no estaban hipertrofiadas por igual. La masa total de tejido resecado solía exceder los 3 g. Las glándulas, de color chocolate, presentaban ocasionalmente extensiones lisas con aspecto de pseudópodos. La degeneración quística era frecuente.

Característicamente, las glándulas estaban compuestas de células muy grandes (más grandes que las células oxífilas normales) con citoplasma claro. En un examen detallado, el citoplasma era finamente reticular o mostraba una fina granularidad eosinofílica. En aproximadamente el 10% de los casos aparecía una mezcla adicional de células pequeñas. Las células hiperplásticas estaban organizadas en sábanas o según un patrón alveolar o acinar con núcleos orientados basalmente. Llamaba la atención la similitud de las características histológicas con las de el carcinoma renal de células claras. El tratamiento de la hiperplasia de células "claras como el agua" era el mismo de la hiperplasia de las células principales.

2) Hiperparatiroidismo secundario

El hiperparatiroidismo secundario, resultado de la hiperplasia secundaria de paratiroides, aparece como una respuesta compensatoria frente a la hipocalcemia (y posiblemente a otros factores) en casos de insuficiencia glomerular renal crónica y de mala absorción intestinal crónica severa (38). Frecuentemente no se puede hacer con certeza la diagnosis diferencial entre hiperplasia primaria y secundaria de células

principales en el campo de la histología, aunque la hiperplasia secundaria tiende a ser más difusa y a mostrar menos tipos celulares.

Macroscópicamente, la hiperplasia secundaria de paratiroides es similar a la hiperplasia primaria de las células principales. Las cuatro glándulas están hipertróficas, aunque no siempre por igual. Microscópicamente, hay una disminución significativa o ausencia de grasa en el estroma, con un reemplazamiento más o menos completo de las glándulas por sábanas difusas de células principales claras o parcialmente vacuoladas. El patrón de células puede variar e incluir nódulos de células oxifílicas o "claras como el agua".

El tratamiento es el mismo que el de la hiperplasia primaria de las células principales.

3) Hiperparatiroidismo terciario

El hiperparatiroidismo terciario es un estado de hiperfunción aparentemente autónoma del paratiroides que se desarrolla en presencia de un hiperparatiroidismo secundario prolongado (103). Suele

encontrarse tras un trasplante de riñón satisfactorio en casos de insuficiencia renal crónica. Las características macroscópicas y microscópicas, así como el modo de tratamiento, son similares a los del hiperparatiroidismo secundario.

K. ASOCIACIONES FAMILIARES EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

El hiperparatiroidismo familiar, transmitido como un carácter autosómico dominante puede aparecer:

1) Solo.

2) Acompañado de tumores de la hipófisis, islotes pancreáticos o de ambos (neoplasia endocrina múltiple, tipo 1, conocida anteriormente como síndrome de Wermer).

3) Acompañado de carcinoma medular bilateral del tiroides, feocromocitoma bilateral o ambos (neoplasia endocrina múltiple, tipo 2a, conocida anteriormente como síndrome de Sipple).

El aspecto macroscópico y microscópico y el tratamiento del hiperparatiroidismo familiar son similares a los de la hiperplasia primaria de las células principales. El hiperparatiroidismo familiar con baja frecuencia se debe a un único adenoma (94, 120) y se asocia a un fibroma osificante de las mandíbulas.

Se ha denominado "hiperparatiroidismo ectópico" y "pseudohiperparatiroidismo" al síndrome clínico consistente en la presencia de un tumor no paratiroideo asociado a hipercalcemia, hipofosfatemia, y PTH detectable en suero (154). Este trastorno suele estar causado por tumores malignos no endocrinos, de los cuales los más habituales son el carcinoma de las células escamosas del pulmón y el carcinoma de las células del riñón.

La hipercalcemia familiar benigna (hipercalcemia hipocalciúrica familiar), una condición rara, es la causa de una hipercalcemia persistente tras una paratiroidectomía subtotal (106). Se caracteriza por un patrón de herencia autosómico dominante, aparición de hipercalcemia en las dos primeras décadas de la vida, hipercalcemia moderada sin hipercalciuria, aumento relativamente mayor del nivel de calcio en suero

que del PTH, infrecuente aparición de complicaciones de la hipercalcemia (nefrolitiasis o úlcera péptica) y no desaparición de la hipercalcemia con la paratiroidectomía subtotal. Los mecanismos patogénéticos pueden incluir una hipersensibilidad renal a la PTH. En un examen macroscópico, las glándulas paratiroides son casi invariablemente de tamaño normal. Microscópicamente, tiene aspecto normal o ligeramente hiperplásico.

L. CITOMETRIA EN PATOLOGIA DE PARATIROIDES

En el estudio de las glándulas paratiroides, la citometría del ADN nuclear ha sido aplicada con diversos objetivos: determinar si las glándulas sin enfermedad aparente que acompañan a adenomas son realmente normales o no (92, 93), diferenciar entre hiperplasia y adenoma (21, 33, 82, 90, 92, 138), distinguir lesiones benignas (adenoma e hiperplasia) de malignas (carcinoma) (33, 82, 90, 112, 138), y predecir el comportamiento biológico de los pacientes con carcinoma (112, 138, 174). Los resultados obtenidos han sido variados y difíciles de comparar entre si, por lo que resulta imposible obtener conclusiones (Tabla 3); los factores responsables de las dificultades son: la naturaleza de la muestra

Tabla 3

**PATRON PLOIDE EN GLANDULAS PARATIROIDES
NORMALES Y PATOLOGICAS**

AUTORES	GLANDULA NORMAL			HIPERPLASIA			ADENOMA			CARCINOMA			ME- TO- DO
	%			%			%			%			
	D	T	A	D	T	A	D	T	A	D	T	A	
BOWLBY y cols. 1987	100	0	0	100	0	0	94.6	0	5.4	0	50*	50	C.F.
LEVIN y cols. 1988	100	0	0	-	-	-	81	16	3	33	0	67	C.E.
JOENSUUY KLEMI. 1988	-	-	-	-	-	-	50	9	26	-	-	-	C.F.
OBARA y cols. 1990	-	-	-	-	-	50	-	-	9	-	-	71	C.F.
HARLOW y cols. 1991	100	0	0	78	0	22	67	8	25	33	27	40	C.F.

Patrones: D: Diploide, T: Tetraploide, A: Aneuploide

Método: C.F.: Citómetro de Flujo, C.E.: Citómetro Estático

* : Poliploide (una población celular diploide y una población celular tetraploide).

(tejido fresco o incluido en parafina) (63, 137, 138), la técnica de cuantificación (citometría de flujo o estática) (2, 92), la técnica de disgregación celular (utilización o no de pepsina) (89, 196), la selección del material normal -algunos trabajos (21, 92, 93) consideran como glándulas normales aquellas aparentemente sanas asociadas con adenomas o bien procedentes de tiroidectomías por bocios-, la inclusión de distintos tipos de hiperplasias (primarias y secundarias) como grupo homogéneo (21), y la ausencia de uniformidad en cuanto al porcentaje de núcleos tetraploides y aneuploides necesario para considerar anormal a una glándula (21, 33, 82, 92, 93, 95, 179).

Aunque la utilidad diagnóstica de la cuantificación del ADN en casos individuales parece ser escasa, diversos estudios han puesto de manifiesto cierto interés patobiológico. En este sentido, se han apuntado algunos datos de utilidad:

- 1) Los adenomas tienen mayor componente tetraploide que las glándulas normales (21, 92, 95, 112, 179) o hiperplásicas (21, 179).

2) Las glándulas consideradas como "normales" de pacientes con adenomas contienen niveles superiores de células tetraploides a los de las glándulas normales de pacientes sin patología paratiroidea (92).

3) Los carcinomas presentan mayor incidencia de poblaciones aneuploides pero este criterio es insuficiente para distinguir entre adenoma y carcinoma (33, 90, 93, 95, 112, 122, 137, 138, 175, 179).

4) En pacientes con carcinomas, la presencia de aneuploidía se asocia a un curso biológico mas agresivo (112, 138).

Recientemente, la cuantificación de la textura nuclear y el establecimiento de patrones cromatínicos, mediante el análisis de imagen, ha permitido discriminar entre células normales y patológicas en algunas localizaciones tumorales (cervix uterino, tiroides) (23, 24, 69, 70, 110, 156, 206), así como graduar el atipismo nuclear de tumores malignos (mama, riñon, etc...) (48). Hasta el presente esta metodología aún no ha sido aplicada en el estudio de las enfermedades de la glándula paratiroides.

M. CLINICA DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

En los últimos cincuenta años el hiperparatiroidismo primario ha dejado de ser excepcional para convertirse, en el ámbito hospitalario y junto con el hipertiroidismo, en la enfermedad endocrina hiperfuncionante más habitual (53, 87, 162). Su prevalencia se estima en 1-5 casos por cada 1000 habitantes (84, 187). Este aumento en el número de casos diagnosticados se ha atribuido, con fundamento, a las determinaciones rutinarias de calcio sérico que se realizan en todos los pacientes hospitalizados. Se descubren de este modo casos asintomáticos que antes eran pasados por alto (88, 133).

Paralelamente, este diagnóstico precoz de la enfermedad ha supuesto un cambio sustancial en la historia natural del hiperparatiroidismo primario, del que actualmente se ven pocos casos con sintomatología florida (133, 144).

Según el modo de presentación clínica, pueden distinguirse tres grupos:

■ **Pacientes con hiperparatiroidismo primario asintomático, descubierto fortuitamente por una hipercalcemia en una analítica de rutina. En la serie de MUNDY y cols. (133) estos casos representaban el 57%.**

■ **Pacientes con hiperparatiroidismo primario que debuta con un síndrome hipercalcémico agudo, y que pueden desarrollar rápidamente manifestaciones clínicas floridas (el 14% de los casos de MUNDY y cols. (133)).**

■ **Pacientes con hiperparatiroidismo primario de desarrollo insidioso durante años, que generalmente se presenta en forma de cólicos nefríticos de repetición.**

Se trata de una enfermedad propia de personas adultas entre la 3ª y la 6ª década de la vida , siendo su aparición rara antes de la pubertad. Las mujeres se ven afectadas con más frecuencia que los hombres, en una proporción de 2:1 o 3:1 (159). Suelen ser casos esporádicos, aunque existen formas familiares y ocasiones en las que el

hiperparatiroidismo primario forma parte de un síndrome de neoplasia endocrina múltiple (84).

La sintomatología y/o complicaciones de la enfermedad pueden agruparse del siguiente modo:

■ **Manifestaciones generales:** El adelgazamiento suele pasar desapercibido, pero se presenta hasta en el 20% de los casos (53) y puede ser la única manifestación clínica relevante que acompañe a la hipercalcemia en el momento del diagnóstico (12). Junto al adelgazamiento, son frecuentes la astenia, la anemia, la poliuria y la polidipsia (53).

■ **Manifestaciones renales:** La litiasis renal era hasta hace unos años, la manifestación clínica mas frecuente de la enfermedad y se observaba en el 70% de los casos (84). Actualmente, las distintas series publicadas revelan un porcentaje sensiblemente inferior: 38% (162), 36% (53), 20-30% (114), 10% (87), 7% (133) y 4% (88). La mayoría de los cálculos de estos pacientes son radiopacos (oxalato cálcico o fosfato cálcico).

La nefrocalcinosis puede o no coexistir con la litiasis renal y se presenta en el 10% de los casos (53). Son relativamente frecuentes la acidosis metabólica y las infecciones urinarias (debidas al estasis urinario y a la alcalinidad de la orina) que pueden conducir a una alteración variable de la función renal.

FELLNER y SPARGO (64) comunicaron un caso de síndrome nefrótico en un paciente con hiperparatiroidismo primario, que se resolvió espontáneamente dos semanas después de la normalización de los niveles séricos de calcio. La biopsia renal había puesto de manifiesto depósitos de un material electrondenso (identificado como calcio) en la membrana basal glomerular y, seis meses después, en el mesangio.

■ **Manifestaciones óseas y articulares:** Aunque el 15% de los pacientes con hiperparatiroidismo primario presentan signos de resorción subperióstica en los estudios radiográficos (114), menos del 10% sufren verdadera enfermedad ósea (87). Pueden presentarse: dolores óseos, fracturas patológicas (22, 41), deformidades de los huesos, quistes óseos y tumores pardos (formados por una matriz ósea decalcificada con

abundantes osteoblastos y osteoclastos), de los que se han comunicado localizaciones tan poco habituales como el paladar duro (141) o la órbita (148) y, excepcionalmente, degeneración maligna (176). En casos de larga evolución, la osteomalacia debida a hipofosfatemia puede formar parte del espectro de la enfermedad (98).

En los últimos años se ha sugerido que la afectación ósea asintomática puede ser más frecuente de lo comunmente aceptado: ERIKSEN y cols. (61) demostraron, en pacientes con hiperparatiroidismo primario y mediante análisis morfométrico, un índice de mineralización ósea reducido. Por el contrario la osteitis fibrosa, lesión característica de la enfermedad, se ha convertido en una rareza clínico-patológica.

Entre las manifestaciones articulares se describen artralgias inespecíficas en las articulaciones de manos y pies y ataques de pseudogota. La condrocalcinosis de rodilla, a menudo indolora, se observa en el 20% de los casos (53). NADDOX y GARTH describieron un caso de hiperparatiroidismo cuya manifestación clínica inicial fue una tendinitis del ligamento patelar del cuádriceps (119).

■ **Manifestaciones neuromusculares y psiquiátricas:** Uno de los síntomas más frecuentes del hiperparatiroidismo primario es la fatigabilidad, acompañada de debilidad muscular, que afecta de manera particular a la musculatura proximal de las cinturas escapular y pelviana. Histológicamente, el músculo presenta signos de una amiotrofia neuropática. Los pacientes hiperparatiroideos pueden sufrir labilidad emocional, mala memoria y cuadros depresivos

■ **Manifestaciones cardiovasculares:** La hipertensión arterial puede presentarse hasta en un 70% de los casos (114), aunque en nuestro medio la incidencia parece ser menor: GRANT y cols. (75) descubrieron hipertensión en el 30% de los 150 casos de hiperparatiroidismo primario estudiados, un porcentaje sensiblemente superior al 15,5%, encontrado en la población española en general. La patogenia de la hipertensión arterial en pacientes hiperparatiroideos no está plenamente establecida pero, en todo caso, parece ser de índole multifactorial (75, 145).

■ **Manifestaciones gastrointestinales:** La hipercalcemia puede producir por si misma nauseas, vómitos, anorexia, dolor abdominal y estreñimiento. Se ha discutido si la clásica asociación con la úlcera

péptica es o no meramente fortuita. Los distintos autores la refieren en el 10-15% de los casos (114), en el 8% (88) y en el 4% (53).

■ **Otras manifestaciones:** Los pacientes con hiperparatiroidismo primario pueden presentar, además de la condro y nefrocalcinosis, calcificaciones en distintas localizaciones: córnea, corazón (99), arterias pulmonares, tiroides (5) y piel, así como simultáneamente en varias vísceras (150).

Mención especial merece el cuadro conocido como **paratirotoxicosis, hiperparatiroidismo agudo o crisis paratirotóxica** (66, 116, 125). Y ello por dos razones, la primera dada su creciente frecuencia como forma de presentación del hiperparatiroidismo primario en pacientes viejos, y la segunda por su carácter de emergencia médico-quirúrgica, que exige una actuación rápida y adecuada.

■ **Enfermedades ocasionalmente asociadas al hiperparatiroidismo primario:** Un gran número de enfermedades, de muy distinta naturaleza, han sido comunicadas en pacientes hiperparatiroideos. En la mayoría de los casos parece tratarse de meras coincidencias, derivadas de la alta

frecuencia con la que el hiperparatiroidismo primario afecta a la población. Entre otras se han citado: policitemia vera y síndrome del nevus displásico (86), colitis ulcerosa (123), leucemia linfoide crónica (139), gammapatía monoclonal de significado indeterminado (132), tiroiditis de Hashimoto (115), aldosteronismo primario normotensivo (195), mieloma de Bence-Jones (68), adenoma hepático degenerado (128), distrofia miotónica (80), polimiositis (105), tumor carcinoide de estómago (167) y prolactinoma ectópico (178).

N. PRUEBAS DIAGNOSTICAS EN EL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

La hipercalcemia puede presentarse en un amplio grupo de enfermedades (118, 193), pero en casi el 80% de los casos su causa es una neoplasia o un hiperparatiroidismo primario (10, 117). Decidir entre ambos procesos, aún después de una cuidadosa historia clínica, suele entrañar dificultades (10).

La determinación por radioinmunoensayo de la paratohormona (PHT) sigue siendo la exploración discriminadora más importante (117,

159), pero no siempre ofrece resultados fiables (10). En la serie de 100 casos de hiperparatiroidismo primario publicada por BROUGHAN y cols. (35), el 41% de los pacientes con enfermedad paratiroidea demostrada tras la cirugía, presentaron niveles normales de PHT antes de la intervención. No suelen darse falsos positivos porque, si bien distintas neoplasias (fundamentalmente aquellas con diferenciación escamosa) secretan una sustancia con actividad PHT-like (130, 135), este producto es radioinmunológica y cromatográficamente distinto de la PTH (130).

Dadas las limitaciones que la determinación aislada de PTH tiene en el diagnóstico diferencial de las hipercalcemias, se han ensayado gran cantidad de índices indirectos de la función paratiroidea. Ninguno ha demostrado ser enteramente satisfactorio, aunque los de mayor rendimiento, siempre usados en conjunto, han sido albúmina sérica, el cloro y la PHT (10). Una concentración subnormal de albúmina y un cloro sérico por debajo de 102 mmol/l son característicos de la hipercalcemia neoplásica (10). La histofotometría ósea, tendente a descubrir resorción osteoclástica aumentada con hipercalcemia neoplásica, es poco concluyente (159).

En pacientes con litiasis renal, una manifestación clínica habitual del hiperparatiroidismo primario, es indispensable un despistaje de la enfermedad paratiroidea. El hiperparatiroidismo es responsable de un 5% de los casos de litiasis renal o incluso de un tanto por ciento mayor en pacientes con enfermedad calculosa activa, bilateral o recurrente. Los índices de función paratiroidea y las determinaciones hormonales de mayor fiabilidad en estos casos son: el calcio sérico, la excreción de calcio en ayunas, la paratohormona media molécula y la reabsorción tubular máxima de fosfatos (52).

Algunos autores (172, 173) han pretendido, sin éxito, establecer una relación entre los niveles de calcio plasmático y/o PTH y el tamaño o peso de las paratiroides, con el propósito de que sirviera de guía en el abordaje quirúrgico del cuello. Puesto que los niveles plasmáticos de PTH no revelan la extensión de la enfermedad paratiroidea, se han desarrollado distintas técnicas exploratorias que persiguen la localización de las glándulas paratiroides patológicas y facilitar así la tarea del cirujano. De ellas nos ocuparemos a continuación:

En los últimos años se han desarrollado numerosos métodos diagnósticos, invasivos y no invasivos, para la localización preoperatoria de las glándulas paratiroides patológicas (59). Han demostrado su utilidad en pacientes hiperparatiroides que van a ser intervenidos por primera vez, pero resultan esenciales en los casos de hiperparatiroidismo persistente o recurrente que deben ser reintervenidos (11, 44, 57, 59, 111). En estos últimos, la probabilidad de éxito quirúrgico se reduce a un 30-40% (182), y ello justifica el empleo de exploraciones preoperatorias que informen al cirujano de la exacta localización de las paratiroides.

Los métodos invasivos (arteriografía y canalización venosa de los plexos tiroideos para la determinación selectiva de PTH (51, 153) no están exentos de riesgo, y han sido relegados en favor de los métodos incruentos. Estos incluyen: esofagograma cervical; la ecografía cervical; la tomografía axial computerizada (TAC) con contraste, la gammagrafía combinada tiroidea-paratiroidea con ^{201}Tl -cloruro y $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertenectato (Gm Tl-Tc) y la resonancia magnética, entre otros (59).

Cada uno de ellos tiene ventajas e inconvenientes y, según los casos, son más o menos sensibles y específicos. Por ello, en pacientes de

alto riesgo quirúrgico suele recomendarse el empleo combinado de varios de estos métodos de localización (134). Se alcanza de este modo una sensibilidad superior al 90% (11) y se limita el porcentaje de falsos positivos, incluso en pacientes previamente intervenidos (44).

El **esofagograma cervical**, hoy en desuso, fue considerado por SOFIANIDES y cols. (183) un método de gran rendimiento en manos experimentadas: estos autores localizaron una glándula patológica en 19 de los 20 casos de hiperparatiroidismo primario que estudiaron. Sólo tuvieron un falso positivo (se trataba en realidad de un adenoma tiroideo) y en dos casos pasaron por alto una segunda glándula anormal.

La **ecografía cervical** es, junto con la TAC, la técnica más difundida. Su sensibilidad es del 75-90% antes de la primera intervención, y del 40-70% en los casos previamente operados (11, 59). Ofrece, además de un bajo costo y nula morbilidad, la gran ventaja de identificar glándulas muy pequeñas (4-5 mm de diámetro) situadas en la vecindad del tiroides; pero fracasa cuando las paratiroides se encuentran en el mediastino o en la porción alta del cuello (59, 134).

Típicamente, la apariencia ecográfica de un adenoma paratiroideo es una imagen oval, hipoecogénica o anecogénica, dispuesta en sentido craneo-caudal y localizada más frecuentemente por detrás del tiroides. Los ultrasonidos informan además de algunas peculiaridades tales como quistificación, multilobulación o la presencia de calcificaciones (160).

La exploración ecográfica puede complementarse mediante la punción con **aguja fina** de la masa cervical (129, 194), y confirmar su origen paratiroideo (el diagnóstico diferencial se plantea con las neoplasias foliculares del tiroides) mediante técnicas inmunocitoquímicas (76, 208). El patrón citológico del adenoma paratiroideo se caracteriza por numerosas células epiteliales de distinto tamaño, generalmente sueltas, con núcleo desnudo y múltiples nucleolos. En las hiperplasias faltan la variabilidad en el tamaño nuclear y los nucleolos evidentes (129).

La introducción de una **aguja fina** en el seno de la paratiroides patológica permite, además, su **ablación mediante la inyección de etanol**, como alternativa terapéutica para aquellos pacientes en los que la intervención quirúrgica esté contraindicada (42).

La TAC puede identificar, antes de la primera intervención, entre el 50 y el 90% de las glándulas paratiroides anormales. En pacientes que ya han sido operados este porcentaje se sitúa por debajo del 50% (11). Es una técnica particularmente útil en la localización de paratiroides ectópicas o situadas en regiones profundas del cuello (11, 134). KOBAYASHI y cols. (101) encontraron que la TAC tenía más sensibilidad que la ecografía y la Gm Tl-Tc, en la localización de las glándulas paratiroides hiperplásicas (generalmente de menor tamaño que los adenomas).

La Gm Tl-Tc es una técnica de reciente introducción en el diagnóstico preoperatorio del hiperparatiroidismo primario. Su fundamento es el siguiente: el ^{201}Tl tiene afinidad tanto por los adenomas e hiperplasias paratiroides como por el tiroides; previamente se realiza una gammagrafía tiroidea convencional (con $^{99\text{m}}\text{Tc}$) para definir los límites del tejido tiroideo; posteriormente se practica una sustracción de imágenes mediante ordenador para eliminar la imagen tiroidea y dejar a la paratiroides patológica como un foco captante de ^{201}Tl (182).

Su sensibilidad es del 65-95% en adenomas paratiroides, y entre el 40-75% cuando se trata de hiperplasias (11, 152, 182). No existen diferencias entre adenoma e hiperplasia en cuanto al porcentaje de captación del isótopo, y por tanto la técnica no permite discriminar entre ambas lesiones (74). Es un método especialmente útil en pacientes con adenomas ectópicos o con hipercalcemia persistente después de una primera intervención quirúrgica (79, 127). Sin embargo no son excepcionales los casos de falsos positivos (11) debido a que tanto algunas lesiones tiroideas (nódulos, carcinomas papilares y focos de tiroiditis) como las metástasis ganglionares de adenocarcinoma, pueden captar el ^{201}Tl (124, 134).

La Gm Tl-Tc y la ecografía son dos técnicas exploratorias que se complementan: el principal factor que limita la sensibilidad de la primera es el tamaño de las paratiroides, mientras que para la ecografía lo es la localización ectópica de las glándulas (182).

La resonancia magnética en pacientes no intervenidos tiene una sensibilidad del 75-81% (59, 100, 185). AUFFERMANN y cols. (17) obtuvieron, en casos de hiperparatiroidismo recurrente, resultados

significativamente mejores empleando esta técnica que los alcanzados con la ecografía o la Gm Tl-Tc.

II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA

Como hemos expuesto en la introducción, el diagnóstico histológico del hiperparatiroidismo primario aún continua siendo un tema controvertido, a pesar de que la actitud terapéutica está bien establecida.

En el curso de los últimos años, la cuantificación del ADN nuclear ha mostrado ser una herramienta útil para conocer el pronóstico de algunos tipos de tumores. Hasta la fecha, publicaciones realizadas con fines diagnósticos (diferencias entre adenoma, hiperplasia y carcinoma) en patología tiroidea son muy escasas y no han permitido obtener conclusiones de valor universal.

Asimismo, también pretendemos investigar la existencia de diferencias cariométricas entre células claras y células principales.

La determinación de texturas nucleares, caracterizadas por sus posibilidades de transición de los niveles de grises, mediante análisis markovianos permite transformar una imagen en un espacio de probabilidades de transición. Esta forma de cuantificación ha sido aplicada a diversos tipos de patologías, con resultados patobiológicos muy diversos. En nuestro conocimiento, no existen referencias en la literatura actual sobre la aplicación de esta metodología al estudio de las lesiones paratiroideas.

III. MATERIAL Y METODOS

A. MATERIAL Y VALORACION

Se han revisado las historias clínicas y piezas de paratiroidectomías de 41 pacientes con diagnóstico clínico de hiperparatiroidismo primario.

Las 48 glándulas extirpadas se fijaron inmediatamente en formol tamponado y se incluyeron rutinariamente en parafina. Se obtuvieron cortes de cuatro micras que se tiñeron con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson. Para el estudio cariométrico los cortes se tiñeron

con DNA stain reagent (Becton & Dickinson). La cuantificación cariométrica se llevó a cabo en un citómetro CAS 200 (Becton & Dickinson). En cada caso se midieron un total de 200 células en campos consecutivos. Con el índice de DNA se establecieron 9 categorías de patrón ploide en función de las poblaciones predominantes: diploide (0.85-1.15); peridiploide (0.75-0.85 y 1.15-1.25); tetraploide (1.70-2.30); hiperdiploide (1.25-1.70); poliploide (dos o más picos múltiplos de 2C); multiploide (dos o más picos no múltiplos de 2C); hipodiploide (<0.75) y aneuploide sin clasificar. Se consideraron como poblaciones celulares predominantes aquellas que representaron más del 10% de la población total y tuvieron alguna representación con doble cantidad de DNA. Para el establecimiento de la referencia diploide se contabilizaron 200 núcleos de células foliculares de tiroides normal procedentes de una misma pieza quirúrgica de tiroidectomía parcial efectuada por patología ajena a la glándula tiroides; los fragmentos de tiroides se incluyeron en el mismo bloque de parafina de cada glándula paratiroides estudiada. Con el software proporcionado por el CAS 200 se pueden medir 23 variables markovianas nucleares, cada una con 254 niveles de grises.

Para establecer diferencias entre enfermedad de una sólo glándula y enfermedad de varias glándulas se consideraron todas las glándulas extirpadas; es decir, 37 en el primer grupo y once en el segundo. El estudio de diferencias entre células principales y células claras se realizó con una muestra de 15.600 células recogidas en campos consecutivos en 78 secciones histológicas.

En el estudio estadístico se estableció un nivel de significación $p < 0,05$. Con el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, se valoró la significación estadística de las diferencias en los grupos, en las medias de las variables citométricas y en el peso glandular. El test de homogeneidad de Chi-Cuadrado se utilizó para variables discretas clínicas. Se consideró como nivel de significación una $p \text{ value} < 0.05$. Las variables seleccionadas en el test no paramétrico fueron sometidas a un análisis discriminante paso a paso con validación cruzada y exclusión en media del 20% de los casos.

B. METODO CITOMETRICO

Para la cuantificación nuclear los cortes se tiñeron con la técnica de Feulgen (25) y en cada caso se midieron al menos 300 núcleos. Se usó un criterio selectivo al elegir la muestra: se inició en cada componente el proceso de medida por las áreas más celulares y con mayor atipia para, posteriormente, en campos consecutivos completar el número total de núcleos.

El sistema de análisis de imagen usado fue el CAS-200 de Beckton-Dickinson, que consta de:

1) VIDEOMICROFOTOMETRO, que incluye tres componentes básicos:

a) Microscopio Reichert Diastar: Se usó un objetivo Plan Achrom 40x con apertura numérica 0,66 con un condensador acromático de 0,9 de apertura numérica. Para una perfecta iluminación de la muestra se realizó la maniobra de Koehler.

b) Cámara de video CCD que proporciona una imagen de 384 x 491 pixels: Con el objetivo de 40x, el pixel medía 0,5 x 0,39 μm^2 que proporcionaba una imagen de 128 x 100 μm^2 , con la siguiente resolución espacial:

$$\text{Area pixel } (\mu\text{m}^2) = (100 / \text{Aumentos})^2 \times 0,0314.$$

c) Ordenador IBM AT con procesador 80386.

2) SOFTWARE: El software usado fue el Cell Measurement Program (CMP) que permitió cuantificar (19):

a) Area nuclear: Calculada contabilizando el número de grupos de grupos de 4 pixels vecinos con una densidad óptica superior a un umbral en una imagen dada. El umbral se computó automáticamente y podía ser ajustado interactivamente por el operador. Los huecos en los objetos no se incluyeron en el cálculo del área, que se obtuvo según la siguiente fórmula:

$$\text{Area nuclear } (\mu\text{m}^2) = N^{\circ} \text{ pixels} \times \text{Area pixel}$$

b) Factor de forma: Se calculó como una combinación del perímetro y el área del núcleo, según la fórmula:

$$\text{Form PE} = \text{Perímetro}^2 / \text{Area}$$

Esta medida es una constante en los objetos circulares y aumenta para los objetos con forma no circular. En la geometría plana la constante es igual a 4π o 12,56, aunque en las formas digitalizadas del círculo existen errores de aproximación, debido a la resolución de los pixels. En los casos de mayor resolución, la constante se aproximó a 14,1.

c) Densidad óptica integral: Se calculó como la suma de las densidades ópticas de cada uno de los pixels.

d) Densidad óptica media: Se obtuvo de la división de la densidad óptica integral por el número de pixels del núcleo. En las muestras biológicas bien teñidas y contrastadas suele oscilar entre 0,20 y 0,50.

e) Desviación típica de la textura: Esta variable representó la desviación típica de la densidad óptica de todos los pixels individuales de un núcleo. Cada pixel del núcleo es medido independientemente de la distancia interpixels o granos.

f) Texturas markovianas del núcleo: El análisis de las texturas markovianas consistió en un proceso en cuatro etapas:

* Normalización del histograma de densidades ópticas del núcleo en 8 niveles de densidad igualmente frecuentes (0-7). Este proceso de ecualización normaliza los objetos que tienen la misma textura, pero difieren en la media o varianza de los niveles de grises. P. ej. , en un supuesto núcleo podríamos tener las siguientes densidades ópticas normalizadas:

0	1	1	7	6	4	0
2	1	3	3	5	5	2
4	4	0	2	7	5	6
6	6	2	4	1	3	3
7	0	2	1	5	2	2
3	4	6	3	7	7	0
1	0	3	2	6	5	0
5	7	1	4	7	5	6

* Elaboración de una matriz de frecuencias de transición $T(i,j,d,a)$ de 8×8 , con el número de transiciones presentes en el núcleo. Para texturas finas, y asumiendo objetos isotrópicos, usamos $d=1$ y $a=0^\circ$. La transición de cada pixel con el vecino es introducida en la matriz de transición en la fila que indique la densidad normalizada del primero y en la columna que indique la del segundo. P.ej., una transición 7,3 es introducida en la fila 7, columna 3. En el supuesto descrito antes, la matriz de frecuencias de transición sería:

	0	1	2	3	4	5	6	7
0	0	1	2	1	0	0	0	0
1	1	1	0	2	1	1	0	1
2	0	2	1	0	1	0	0	1
3	0	0	0	2	2	1	0	1
4	2	1	0	0	1	0	2	1
5	1	0	2	0	0	1	2	1
6	0	0	1	1	1	1	1	0

* Construcción de la matriz probabilidad-transición $P(i,j)$ por división de las frecuencias de transición por el número total de transiciones N_t [$P(i,j) = T(i,j)/N_t$].

El proceso de Markov se completa cuando se especifican todas las probabilidades de transición $P(i,j)$. Las características texturales markovianas están definidas todas ellas en términos de probabilidades de transición y se asume que describe adecuadamente la textura nuclear.

Algunos ejemplos de estas texturas son:

<u>TEXTURA</u>	<u>DEFINICION</u>	<u>SIGNIFICADO</u>
Momento angular 2º	$\Sigma P(i,j)^2$	Homogeneidad
Contraste interno	$\Sigma P(i,j)(i,j)$	Med. contr.
Entropía	$-\Sigma P(i,j) \log P(i,j)$	Heterogeneidad
Suma de medias	$\Sigma P(i,j)(i+j)$	Med. nivel transic.
Simetría triangular	$\Sigma P(i,j) - P(j,i) $	Anisotropía

En el presente estudio seleccionamos las siguientes texturas nucleares: segundo momento angular, contraste, momento diagonal primario, momento diagonal secundario, momento diferencial inverso,

entropía global, entropía, probabilidad de transición máxima, varianza diferencial, entropía diferencial, varianza diagonal, simetría triangular.

C. DENSIDAD OPTICA INTEGRAL

Los valores de la densidad optica integral nuclear se utilizaron, por medio de un programa propio elaborado con lenguaje BASIC, para calcular los siguientes parámetros:

a) Ploidía-ADN/ $2c$ (media y desviación típica), expresada en valores relativos de la densidad óptica integral nuclear de la población celular tumoral con respecto al control diploide (linfocitos no activados y no superpuestos presentes en la misma preparación).

b) Índice de desviación $2c$ ($2cDI$), porcentaje de células con contenido de ADN superior a $5c$ y diferente de los exponentes de 2 ($5cER$) e índice de malignidad ($IM = 2cDI \times 5cER$), con los mismos criterios que emplearon BÖCKING y cols. (30, 31).

c) **Porcentaje de células con un contenido de ADN en los rangos diploide y tetraploide.**

d) **Indices ADN de la/s población/es clonal/es presentes en la neoplasia.**

e) **Indice de proliferación celular (IP), calculado según la fórmula:**

$$IP (\%) = [(S + G_2 + M) / (G_{0/1} + S + G_2 + M)] \times 100.$$

Para todos estos cálculos, resulta esencial la identificación de los picos $G_{0/1}$ de cada subpoblación clonal. El criterio usado para identificar en una proliferación celular una subpoblación clonal fue la coexistencia de picos $G_2 + M$ con el doble contenido de ADN del pico $G_{0/1}$ y que estos últimos estuvieran constituidos por al menos el 10% de las células medidas. Las proliferaciones celulares sólo fueron consideradas como ADN poliploides cuando el pico $G_2 + M$ de la primera subpoblación contenía el 15% de la células medidas y se identificaba el pico $G_2 + M$ de la segunda subpoblación.

En la **Tabla 4** se relacionan todas las variables cariométricas y markovianas estudiadas.

Los límites de los picos $G_{0/1}$ se definieron de forma simétrica y se establecieron arbitrariamente, según el modelo rectangular de interpretación de los histogramas del ciclo celular, utilizando para determinar los límites del pico un criterio proporcional, $1/8c$ por encima y por debajo de la moda del pico. En caso de coexistencia de diferentes subpoblaciones clonales todos los picos $G_{0/1}$, excepto el primero, se disminuyeron en el 5% del total de células de la/s población/es coexistente/s (porcentaje mínimo de células en fase distinta a $G_{0/1}$ y presentes en cada pico $G_{0/1}$ de las líneas celulares coexistentes). Este sistema permite una aproximación a los índices de proliferación celular por exceso (102, 203). En el cálculo del índice de proliferación, se excluyeron las células con contenido de ADN menor que el límite inferior del primer pico $G_{0/1}$ y mayor que el límite superior del último pico $G_2 + M$.

Tabla 4

PARAMETROS CARIOMETRICOS Y DE TEXTURAS MARKOVIANAS.

CARIOMETRICOS			
TIPOCEL	TIPO CELULAR	PORC4C	PORCENTAJE DE CELULAS TETRAPLOIDES
NUMLINCEL	NUMERO DE LINEAS CELULARES	PORC5C	PORCENTAJE DE CELULAS HIPERTETRAPLOIDES
IADNLINPRE	INDICE DE ADN EN LINEA CELULAR PREVALENTE	CATEGORIA	PATRON PLOIDE
AREALINPRE	AREA NUCLEAR DE LINEA CELULAR PREVALENTE	MEDPLOID	PLOIDIA MEDIA
IADNDIF	INDICE DIFERENCIAL DE ADN DE LAS LINEAS PREVALENTE Y DIPLOIDE	QBSZ	AREA NUCLEAR
PORC2C	PORCENTAJE DE CELULAS DIPLOIDES	QBSH	FORMA NUCLEAR (PERIMETRO ² /AREA)
PORC2A4C	PORCENTAJE DE CELULASHIPERDIPLOIDES		
MARKOVIANOS			
TXA	MOMENTO ANGULAR SEGUNDO	TXM	INFORMACION MEDIDA B
TXB	CONTRASTE	TXN	COEFICIENTE DE CORRELACION MAXIMA
TXC	CORRELACION	TXO	COEFICIENTE DE VARIACION
TXD	MOMENTO DIFERENCIAL	TXP	PROBABILIDAD DE LA TRANSICION DEL PICO
TXE	MOMENTO DIFERENCIAL INVERSO	TXQ	VARIANZA DIAGONAL
TXF	MEDIA DE LA SUMA	TXR	MOMENTO DIAGONAL
TXG	VARIANZA DE LA SUMA	TXS	SEGUNDO MOMENTO DIAGONAL
TXH	ENTROPIA DE LA SUMA	TXT	MOMENTO DEL PRODUCTO
TXI	ENTROPIA	TXU	SIMETRIA TRIANGULAR
TXJ	VARIANZA DIFERENCIAL	TXV	"BORRON"
TXK	ENTROPIA DIFERENCIAL	TXW	DESVIACION TIPICA
TXL	INFORMACION MEDIDA A		

IV. RESULTADOS

A. CLINICOPATOLOGICOS

En 37 pacientes la enfermedad interesaba a una sólo glándula, mientras que en cuatro afectaba a dos o mas. La edad media en el momento del diagnóstico fué de 47,2 años (14-73) en el primer grupo y de 52,7 años (46-61) en el segundo. En ambos, la relación mujer/varón fué de 3/1.

La mayoría de las glándulas procedían de los polos inferiores (36.8% inferior derecho y 18.4% inferior izquierdo). En el 7.9% de los

pacientes la localización se consideró ectópica. Las manifestaciones clínicas más comunes fueron las siguientes: cuadro clínico florido con patología ósea incluida (42.3%), síntomas renales (34.6%), hipertensión (9.6%), síntomas óseos (5.8%). El 7.7% eran pacientes asintomáticos. En un caso en el que se extirparon tres glándulas el paciente presentaba otras neoplasias endocrinas (MEN I). En 34 pacientes se pudo realizar seguimiento clínico cuya duración osciló entre 1-7 años. La evolución se consideró favorable en el 84.8% de los pacientes; en cambio, la sintomatología persistió o recurrió en el 15.2%. Los diagnósticos anatomopatológicos fueron de hiperplasia primaria en 4 (9.8%) y de adenoma en 38 (90.2%). Los patrones de crecimiento más habituales fueron el difuso (56.2%) y el lobulado (39.6%). La población celular predominante fue mixta en 36 casos (73.4%), de células principales en 10 (20.5%) y de células claras en 3 (6.1%); es de destacar que todos los casos constituidos exclusivamente por células principales correspondían a lesiones uniglandulares. Tres glándulas (6.1%) tenían microquistes. El pleomorfismo nuclear se consideró leve en 32 glándulas (68.1%) y moderado a severo en 15 (31.9%). Se encontraron mitosis ocasionales en 8 glándulas (16.7%) y células bi-multinucleadas en 16 (33.3%). El peso

de las glándulas estaba comprendido entre 119 y 20.000 mg. (media 3.073 mg.).

En la **Tabla 5** se relacionan los hallazgos clínicopatológicos más significativos.

B. CITOMETRICOS

En el test de Kruskal-Wallis se seleccionaron 11 variables cuantitativas para diferenciar las lesiones uniglandulares de las pluriglandulares (**Tabla 6**). Es de destacar que todas ellas eran medidas de dispersión, excepto el peso glandular. Sin embargo, en el análisis discriminante posterior no se seleccionaron variables que soportaran la validación cruzada. En el test de homogeneidad de la Chi-cuadrado se encontraron dos variables discretas con valores significativos: patrón de crecimiento (lobular, difuso) y la biomultinucleación (presencia o ausencia). El patrón difuso fue más frecuente en las lesiones uniglandulares mientras que el patrón lobular y la biomultinucleación lo fueron en las pluriglandulares (**Tabla 7**).

Tabla 5

HALLAZGOS CLINICOPATOLOGICOS EN 41 PACIENTES CON HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

	ENFERMEDAD DE UNA GLANDULA	ENFERMEDAD DE VARIAS GLANDULAS		ENFERMEDAD DE UNA GLANDULA	ENFERMEDAD DE VARIAS GLANDULAS
PACIENTES	37	4	PESO GLANDULAR (media en g)	4 (0.12-20)	0.37 (0.12-0.63)
EDAD MEDIA (años)	47.2(14-73)	52.7(46-61)	PATRON CRECIMTº:		
SEXO: Varón	28	3	Difuso		
Hembra	9	1	Lobular	26	1
MANIFEST. CLINICAS:				11	11
Cuadro clín.florido	10	2	CAPSULA		
Síntomas renales	18	1		21	-
Hipertensión	2	1	TEJIDO ADIPOSO		
Asintomático	3	-		8	5
Desconocido	4	-	TIPO CELULAR:		
MEN tipo 1	-	1	Céls. principales	10	-
GLAND. PARATIROIDES:			Céls. claras	2	4
Inferior derecha	15	5	Céls. mixtas	25	8
Inferior izquierda	7	5	PLEOMORFISMO		
Superior derecha	3	1	NUCLEAR:		
Superior izquierda	3	1	Leve		
Ectópica	3	-	Moderado	26	12
Desconocida	7	-	Severo	10	-
SEGUIMTº (1-7 años):				1	-
Libre de enfermedad	29	3	FIGURAS MITOSIS:		
Recurrencia	1	1	< 1/10 HPF	8	-
Desconocido	7	-	> 1/10 HPF	1	-
GLANDULAS EXTIRPADAS	37	12	CELULAS MULTINUCLEADAS	8	8

Tabla 6

**DIFERENCIAS ENTRE UNA GLANDULA Y VARIAS GLANDULAS
CON ENFERMEDAD PARATIROIDEA.
TEST DE KRUSKAL-WALLIS.**

VARIABLE	P-VALUE	VARIABLE	P-VALUE
IADNLINP	0.3296	TXIDT	0.0062 *
AREALINP	0.7806	TXJMED	0.1005
IADNDIF	0.5058	TXJDT	0.4692
PORC2C	0.8022	TXKMED	0.0584
PORC2A4C	0.9889	TXKDT	0.0063 *
PORC4C	0.0998	TXLMED	0.1034
PORC5C	0.3786	TXLDT	0.0159 *
MEDPLOM	0.6261	TXMMED	0.0819
MEDPLODT	0.0842	TXMDT	0.0081 *
OBSZMED	0.4692	TXNMED	0.0704
OBSZDT	0.0154 *	TXNDT	0.0278 *
OBSHMED	0.1188	TXOMED	0.1064
OBSHDT	0.0031 *	TXODT	0.7698
TXAMED	0.1580	TXPMED	0.2399
TXADT	0.0353 *	TXPDT	0.5795
TXBMED	0.0844	TXQMED	0.4569
TXBDT	0.3299	TXQDT	0.6752
TXCMED	0.0894	TXRMED	0.1557
TXCDT	0.0420 *	TXRDT	0.9889
TXDMED	0.0949	TXSMED	0.0922
TXDDT	0.4275	TXSDT	0.4194
TXEMED	0.7592	TXTMED	0.0622
TXEDT	0.0646	TXTDT	0.3439
TXFMED	0.0949	TXUMED	0.5218
TXFDT	0.6968	TXUDT	0.5963
TXGMED	0.0622	TXVMED	0.1859
TXGDT	0.3731	TXVDT	0.0795
TXHMED	0.5390	TXWMED	0.0895
TXHDT	0.0089 *	TXWDT	0.4776
TXIMED	0.0894		

MED: Media
 DT: Desviación típica
 * : Valores significativos

Tabla 7

**DIFERENCIAS ENTRE ENFERMEDAD DE UNA GLANDULA
Y VARIAS GLANDULAS**

	PATRON DE CRECIMIENTO (P=0.0005)		BI O MULTINUCLEACION (P=0.0052)	
	LOBULADO	DIFUSO	AUSENTE	PRESENTE
UNA GLAND.	9/35(25,7%)	26/35(74,3%)	29/35(78,4%)	8/35(21,6%)
VARIAS GLAND.	10/11(90,9%)	1/11 (9,1%)	3/11 (27,3%)	8/11(72,7%)
TOTAL	19/46(41,3%)	27/46(58,7%)	32/46(66,7%)	16/46 (33,3%)

En la **Tabla 8** se detalla el patrón ploide en relación con el número de glándulas afectadas. El 55.6% de las glándulas presentaba un patrón diploide, el 8.9% peridiploide, el 6.7% hiperdiploide, el 11.1% poliploide, el 15.6% hipodiploide y el 2.2% aneuploide no clasificable. En ninguno de los casos se identificaron histogramas tetraploides, hipertetraploides o multiploides en poblaciones superiores al 10%. Un patrón tetraploide superior al 3% se advirtió en 18 casos (39.1%), siendo mucho mas frecuente entre las lesiones uniglandulares (44.1%) que en las pluriglandulares (27.3%). Aunque en el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas con respecto al patrón ploide, la poliploidía fue mas común en las lesiones pluriglandulares (**Figs. 1-4**).

En el test de Kruskal-Wallis se seleccionaron cuatro variables cariométricas capaces de diferenciar entre células principales y células claras: OBSHDT, TXADT, TXKDT y TXNDT (**Tabla 9**). No obstante, en el análisis discriminante la función de clasificación quedó constituida sólo por dos variables (OBSHDT, TXNDT) que permitieron una clasificación total correcta del 70.7% (67.9% para células principales y 78.9% para células claras). Estas variables se seleccionaron en la mayoría de los análisis discriminantes adicionales con validación

Tabla 8

**DISTRIBUCION DEL PATRON PLOIDE EN FUNCION DEL
NUMERO DE GLANDULAS AFECTADAS**

	DIPLOIDE	PERI-DIPLOIDE	HIPER-DIPLOIDE	POLI-PLOIDE	HIPO-DIPLOIDE	ANEUPL. INCLASIF.
UNA GLANDULA	19/34 (55,9%)	4/34 (11,8%)	2/34 (5,9%)	3/34 (8,8%)	5/34 (14,7%)	1/34 (2,9%)
VARIAS GLANDUL.	6/11 (54,5%)	0/11 (0%)	1/11 (9,1%)	2/11 (18,2%)	2/11 (18,2%)	0/11 (0%)
TOTAL	25/45 (55,6%)	4/45 (8,9%)	3/45 (6,7%)	5/45 (11,1%)	7/45 (15,6%)	1/45 (2,2%)

PATRON DIPLOIDE

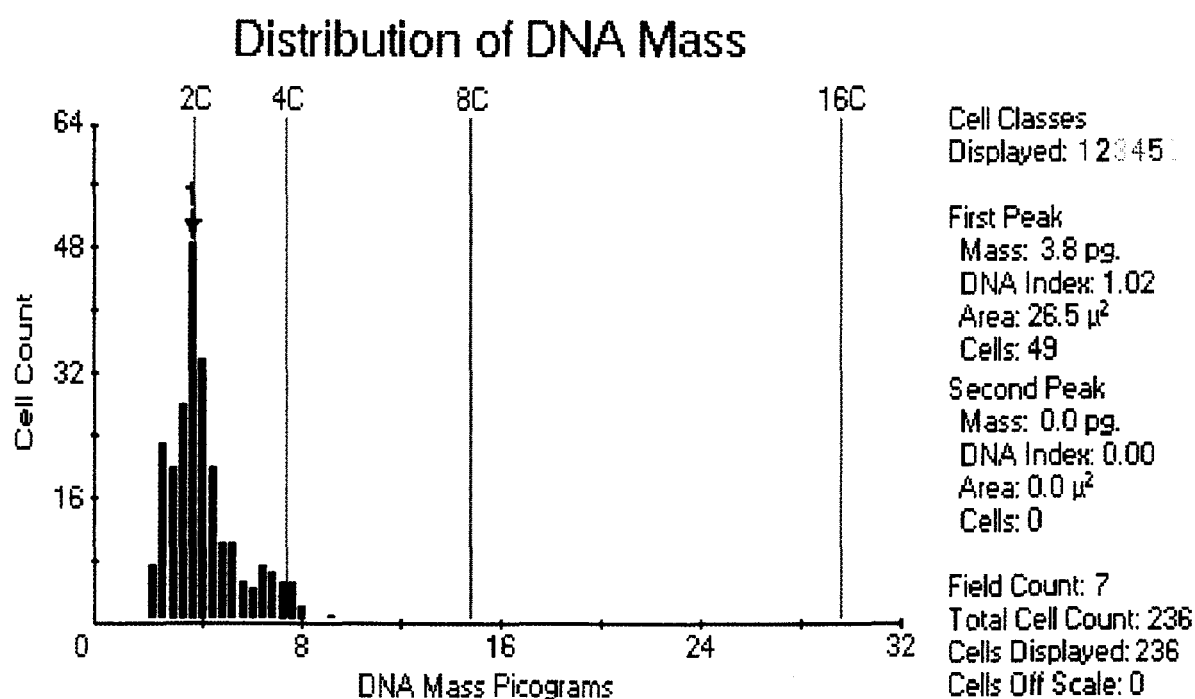


Fig. 1

PATRON HIPODIPLOIDE

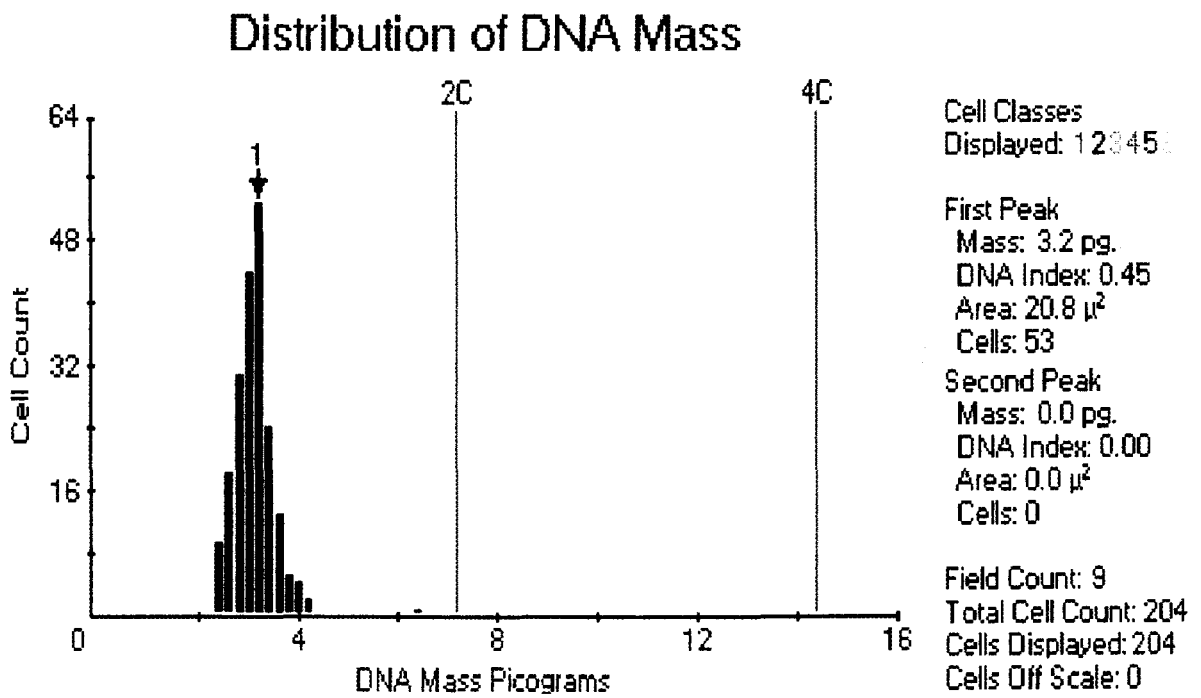


Fig. 2

PATRON POLIPLOIDE

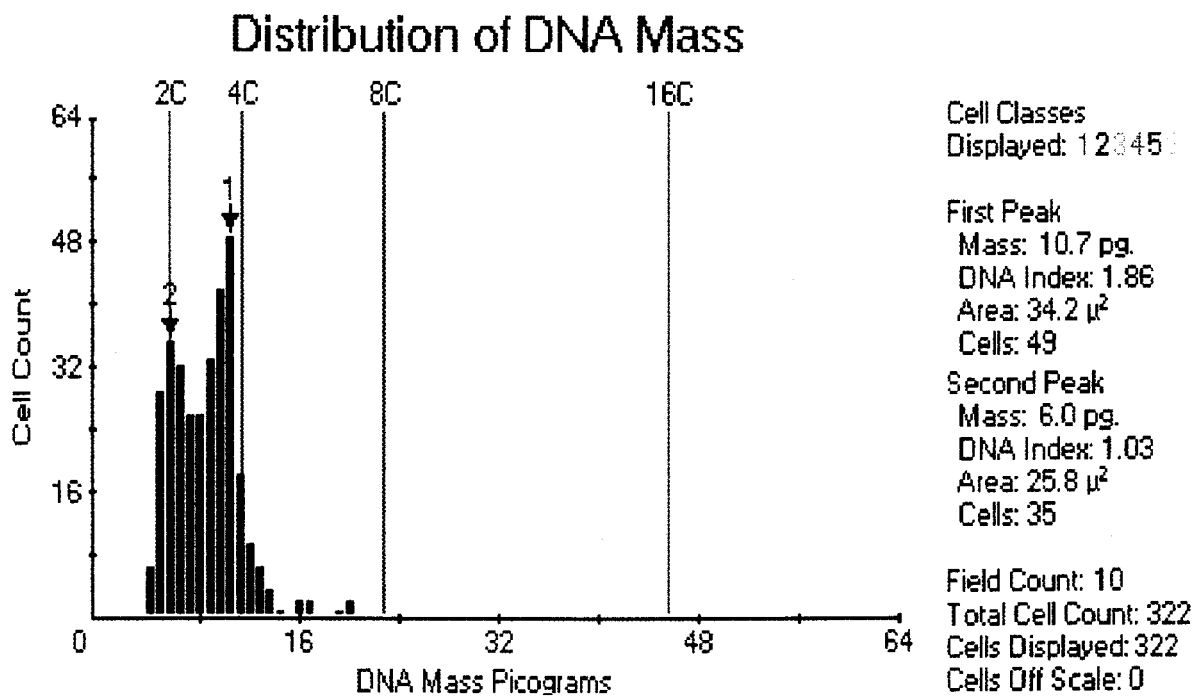


Fig. 3

PATRON ANEUPLOIDE

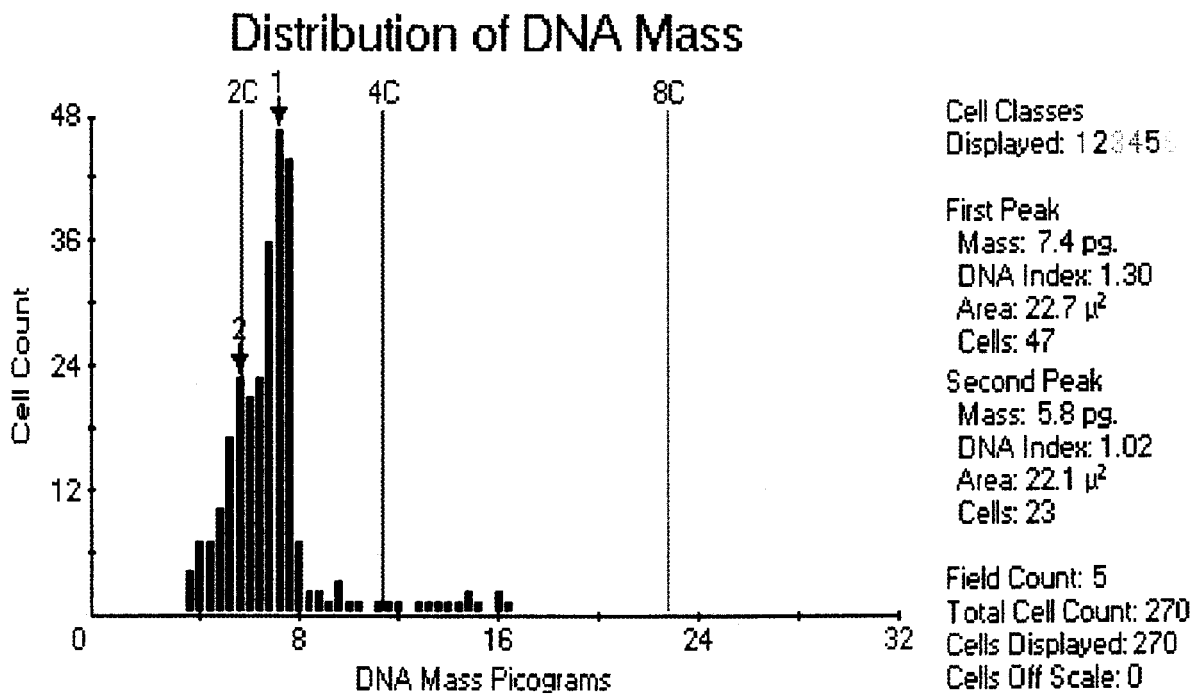


Fig. 4

Tabla 9

**DIFERENCIAS ENTRE CELULAS PRINCIPALES Y CELULAS CLARAS.
TEST DE KRUSKAL-WALLIS.**

VARIABLE	P-VALUE	VARIABLE	P-VALUE
IADNLINP	0.1645	TXIDT	0.1273
AREALINP	0.4657	TXJMED	0.2474
IADNDIF	0.0790	TXJDT	0.2686
PORC2C	0.5296	TXKMED	0.4357
PORC2A4C	0.1379	TXKDT	0.0384 *
PORC4C	0.5375	TXLMED	0.4544
PORC5C	0.6012	TXLDT	0.0661
MEDPLOM	0.8900	TXMMED	0.5295
MEDPLODT	0.2108	TXMDT	0.0906
OBSZMED	0.4814	TXNMED	0.5296
OBSZDT	0.7060	TXNDT	0.0043 *
OBSHMED	0.9549	TXOMED	0.5801
OBSHDT	0.0260 *	TXODT	0.3887
TXAMED	0.6231	TXPMED	0.7239
TXADT	0.0116 *	TXPDT	0.4392
TXBMED	0.2579	TXQMED	0.8357
TXBDT	0.2852	TXQDT	0.4671
TXCMED	0.3653	TXRMED	0.3145
TXCDT	0.0711	TXRDT	0.4582
TXDMED	0.3268	TXSMED	0.3237
TXDDT	0.2881	TXSDT	0.2740
TXEMED	0.2061	TXTMED	0.3788
TXEDT	0.9246	TXTDT	0.7725
TXFMED	0.1954	TXUMED	0.8406
TXFDT	0.2659	TXUDT	0.5375
TXGMED	0.3393	TXVMED	0.2176
TXGDT	0.5888	TXVDT	0.9296
TXHMED	0.9698	TXWMED	0.1889
TXHDT	0.8276	TXWDT	0.3455
TXIMED	0.5011		

MED: Media
 DT: Desviación típica
 * : Valores significativos



cruzada, si bien el porcentaje de clasificación correcta osciló entre 61.3% y 76.3%.

En el análisis del patrón ploide no se advirtieron diferencias con significación estadística entre células principales y células claras. No obstante, la poliploidía, aneuploidía y tetraploidía superiores al 3% fueron levemente mas comunes entre las células principales (Tabla 10).

Tabla 10

DISTRIBUCION DE LOS PATRONES DE PLOIDIA EN FUNCION DEL TIPO DE CELULARIDAD

	DIPLOIDE	PERI-DIPLOIDE	HIPER-DIPLOIDE	POLI-PLOIDE	HIPO-DIPLOIDE	ANEUPL. INCLASIF.
CELULAS PRINCIP.	30/56 (53,6%)	5/56 (8,9%)	7/56 (12,5%)	5/56 (8,9%)	8/56 (14,3%)	1/56 (1,8%)
CELULAS CLARAS	14/19 (73,7%)	1/19 (5,3%)	1/19 (5,3%)	0/19 (0%)	3/19 (15,8%)	0/19 (0%)
CELULAS OXIFILICAS	1/3 (33,3%)	1/3 (33,3%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	1/3 (33,3%)	0/3 (0%)
TOTAL	45/78 (57,7%)	7/78 (9%)	8/78 (10,3%)	5/78 (6,4%)	12/78 (15,4%)	1/78 (1,3%)

V. DISCUSSION

A. *DEL SISTEMA DE ANALISIS DE IMAGEN*

El análisis de imágenes digitales representa una aproximación en desarrollo al análisis celular cuantitativo. De hecho, la obtención de imágenes digitales representa la aproximación más general al análisis celular, hasta el punto de que se puede utilizar simultáneamente información morfométrica, fotométrica y espectral para construir rasgos compuestos de orden superior. En este sentido, la obtención de imágenes digitales tiene más en común con el proceso visual humano que otros

instrumentos utilizados habitualmente para la cuantificación morfométrica.

El prototipo de sistema de obtención de imágenes de la actual generación utiliza una cámara vidicon que escanea una imagen con un punto enfocado finamente. Por su parte, la cámara genera una señal analógica cuya amplitud es proporcional a la intensidad de luz del punto muestreado. La señal analógica se muestrea y la amplitud se convierte en un número digital. Estos números digitales se almacenan entonces en una memoria de video.

Existen diversas rutas para procesar la imagen digital almacenada en la memoria de video. La imagen digital puede reconvertirse a formato analógico para mostrarla. En el proceso de conversión de digital a analógico, los valores de intensidad pueden mapearse a diferentes niveles mediante tablas de consulta. Las tablas de consulta múltiples pueden asociar múltiples convertidores de digital a analógico. Las imágenes con falso color (pseudocolor) se generan mediante el apropiado mapeado de tablas de consulta que asocian canales de salida en rojo, azul y verde de esta forma.

Muchos sistemas de video tienen procesadores en "pipeline" especializados que realizan operaciones globales con la memoria de video a altas velocidades. Alternativamente, la imagen de video o un área de interés dentro de la imagen pueden ser transferidas a un ordenador digital de uso general. Aunque las operaciones se realizan normalmente más lentamente en un ordenador de uso general, existe una mayor flexibilidad en el tipo de operaciones realizadas. Podemos esperar que futuras generaciones de sistemas de procesamiento de imágenes estén equipados con un hardware más especializado para operar directamente sobre la memoria de video.

Un atributo importante del sistema de obtención de imágenes es su resolución espacial global. La resolución espacial es una función de la óptica del microscopio, de la resolución de la cámara y de la densidad de muestreo del digitalizador. Estas características espaciales pueden ser descritas en una función de transferencia de modulación. Relacionado con la resolución espacial está el número de puntos que pueden ser analizados simultáneamente. El formato más comúnmente usado hoy en día en sistemas de obtención de imágenes digitaliza cuadros con dimensiones del orden de 512 x 512 pixels. Esto puede atribuirse en gran

parte al bajo coste del equipo de video compatible con los estándares de televisión de 500 líneas. Por contra, la retina humana es capaz de resolver el equivalente de aproximadamente 10.000 líneas en un campo visual.

Otro importante atributo de un sistema de obtención de imágenes digitales son sus propiedades fotométricas. Esto está determinado por el cociente entre señal y ruido del sistema electrónico de la cámara y por el número de niveles de grises a los que es convertida la señal analógica de la cámara por el digitalizador. La mayoría de los sistemas representan la información de la densidad de pixels como 2^8 , o 256 niveles de grises. Por contra, el sistema visual humano sólo es capaz de discriminar unos 64 niveles de grises no adyacentes en una imagen. El estándar de 256 niveles de grises ha sido adoptado, en gran parte porque la mayoría de los ordenadores digitales procesan la información en unidades de 8 bits denominados bytes.

Hasta la fecha, el muestreo multiespectral de imágenes de células no ha conseguido un status significativo en los sistemas de obtención de imágenes digitales, aunque la información multiespectral ha sido

utilizada junto con la tinción de Pap para diferenciar células escamosas queratinizantes en esputo (190) y en la segmentación (136) y clasificación (204, 205) de células ectocervicales. Esto puede atribuirse a diversos factores. La mayor resolución espacial de las cámaras monocromas sobre las de color desalienta el procesamiento de imágenes con cámaras de color. La aproximación alternativa de escanear la imagen secuencialmente a diferentes longitudes de ondas para reconstituir la imagen espectral no ha encontrado aplicación amplia. Debería señalarse que en el microscopio de absorción se mide la cantidad de colorante adherido a la estructura. En los estudios fotométricos se asume una relación estequiométrica entre el colorante y el substrato de unión. No disponemos de una gran batería de colorantes con absorciones a diferentes longitudes de onda que tengan especificidades claramente definidas por las estructuras bioquímicas.

La representación de imágenes microscópicas de forma digital tiene implicaciones de gran repercusión. Las imágenes digitales pueden almacenarse indefinidamente y copiarse sin la pérdida de resolución inherente a los sistemas analógicos. Con el tiempo, ésto debería conducir al establecimiento de bases de datos compuestas por imágenes de

diagnóstico que puedan ser fácilmente transmitidas para propósitos de consulta y enseñanza.

Actualmente, la aplicación más importante de la obtención de imágenes digitales es la capacidad para automatizar el proceso de reconocimiento de patrones. El proceso de reconocimiento de patrones tiene tres fases principales: a) La identificación de fronteras celulares y nucleares, b) La extracción de parámetros celulares, y c) La clasificación de las células dentro de categorías definidas (205).

El proceso de aislamiento de objetos del fondo se denomina segmentación de la escena. La segmentación de la escena representa uno de los más complicados problemas a los que se enfrenta la obtención de imágenes digitales y es quizás el proceso más idiosincrático entre los varios sistemas de obtención de imágenes de células. En la microscopía cuantitativa, las regiones de interés son normalmente el núcleo o el citoplasma, aunque aproximaciones similares pueden usarse para identificar estructuras histológicas tales como la luz glandular.

El aislamiento de objetos del fondo puede aproximarse de dos formas fundamentalmente diferentes. En la aproximación regional, una clasifica los pixels como pertenecientes a una región o al fondo. Un ejemplo de aproximación regional relativamente simple y usada comúnmente es la selección de un límite absoluto en los niveles de grises. Los pixels con densidades por encima del límite son considerados como el objeto, mientras que los que tienen densidades inferiores son considerados el fondo (o viceversa).

La segunda aproximación general a la segmentación de la escena es la aproximación por fronteras, p.e., los pixels se clasifican de acuerdo a si caen sobre la interfase de una región de interés y el fondo. Un buen ejemplo de la aproximación por fronteras es el uso de algoritmos de rastreo de fronteras de gradientes. Los métodos basados en gradientes convierten primero los pixels de las imágenes, desde niveles absolutos de grises a niveles de gradientes, basándose en la tasa de cambio entre pixels vecinos. El proceso de rastreo de fronteras comienza por identificar cualquier punto de una frontera, que es normalmente un punto con un gradiente máximo. Se examinan los puntos adyacentes, y el que tenga el máximo gradiente se selecciona como el siguiente punto

de la frontera. El proceso se repite hasta que la frontera de la región está definida.

Cualquier técnica de segmentación de la escena tendrá fallos. En general, un bajo contraste y una mayor complejidad en la imagen producirán tasas de fallos mayores. Hay, además, concesiones mutuas en la velocidad de procesamiento entre las distintas técnicas. Las operaciones globales que pueden ser implementadas con procesadores en pipelines pueden ejecutarse generalmente más rápido que los procesos que dependen de una unidad de procesamiento central.

Después de que el núcleo haya sido identificado, pueden calcularse una serie de parámetros, denominados vector de características. Estos parámetros pueden variar desde el relativamente simple hasta el estadísticamente complejo. Un buen ejemplo de un parámetro relativamente simple es la densidad óptica integrada, que se calcula sumando todos los pixels dentro de la región nuclear. El cálculo de la densidad óptica integrada de la imagen digital emula funcionalmente el comportamiento de espectrofotómetros ópticos más antiguos. Ejemplos adicionales de parámetros nucleares relativamente

simples incluyen características morfométricas tales como el perímetro, el área y la longitud. Ejemplos de parámetros más complejos derivados de la imagen nuclear incluyen la generación de coeficientes de Fourier que describen el contorno nuclear, o los coeficientes de autocorrelación que reflejan la textura de la cromatina.

B. DE LAS TEXTURAS MARKOVIANAS

La textura es una de las distintas propiedades (p.e., color, forma, tamaño) por las que los seres humanos perciben imágenes, y es una importante propiedad para la clasificación de imágenes biomédicas. No obstante si se usa la textura óptica en un sistema de clasificación computerizada (p.e., reconocimiento automático de patrones), debe ser una propiedad medible.

No se dispone de ninguna definición de textura que conduzca sin ambigüedades a parámetros cuantitativos de textura. A menudo uno debe recurrir a argumentar que un parámetro de textura particular definido heurísticamente mide, por definición, la textura. A pesar del problema no resuelto de la definición de textura, se ha propuesto que un

parámetro de textura pueda ser definido en función de las siguientes características: a) La variación de los valores de los niveles de grises en la zona circundante a un punto fotográfico en una imagen monocromática, donde el tamaño de la zona circundante depende del tamaño de un elemento repetitivo fundamental de textura (téxel) y es función de la densidad de puntos fotográficos. b) Que el parámetro que esté definido sea finito para cada zona circundante dentro de una imagen. c) Que el parámetro asuma un valor por cada zona circundante a lo largo de toda la imagen, y si la imagen o porción de la imagen es percibida y definida como poseedora de una "textura uniforme", estos valores tienen una varianza por debajo de un cierto nivel especificado. En resumen, un parámetro de textura es un estadístico local; local significa que el estadístico es calculable a partir de un conjunto de puntos fotográficos vecinos en una zona circundante que es pequeña comparada con el número de puntos fotográficos de la imagen completa.

Una textura óptica "ideal" es un patrón determinístico, periódico y bidimensional. De esta forma, conociendo la imagen, forma, posición, orientación, frecuencia y contenido en los niveles de grises del téxel se puede reconstruir una textura ideal. En la práctica, las texturas ópticas

reales no son estrictamente periódicas ni determinísticas. Muestran irregularidades en el espaciamento del t́xel y en la distribución de los niveles de grises. La esencia de la investigación sobre el análisis de texturas ópticas es la búsqueda de parámetros que caractericen a los patrones de texturas subyacentes.

Los patrones de texturas subyacentes pueden ser caracterizados por sus posibilidades de transición de los niveles de grises, por sus gradientes de niveles de grises, por la subestructura de la imagen o por las frecuencias especiales (155). Estas cuatro caracterizaciones conducen a cuatro principales aproximaciones a la medición de texturas ópticas. A saber, el análisis markoviano, el análisis de gradientes, el análisis granulométrico y el análisis de transiciones ortogonales. Cada aproximación proporciona parámetros que son calculados a partir de imágenes transformadas. El análisis markoviano transforma una imagen (un espacio de patrones) en un espacio de probabilidades de transición, el análisis de gradientes transforma una imagen en un espacio de gradientes, el análisis granulométrico transforma una imagen en sí misma (transformación de identidad) y el análisis de transformaciones

ortogonales transforman una imagen en un dominio de Fourier o en otros espacios de transformaciones ortogonales.

La aproximación del análisis markoviano a la medida de texturas trata las imágenes como procesos estocásticos (147) en la forma de campos markovianos discretos (209). El análisis markoviano produce matrices de probabilidades de transición de niveles de grises, que son series de números que describen imágenes digitales en función de la probabilidad de ocurrencia de diferentes niveles de grises y secuencias de niveles de grises (149). Los parámetros de textura se calculan a partir de tales matrices. El momento de inercia de la diagonal de una matriz de probabilidad de transiciones es un poderoso parámetro de textura de Markov (168). El valor numérico de este parámetro varía de forma inversa a la tosquedad de la imagen, ya que texturas más toscas poseen con mayor probabilidad puntos fotográficos vecinos con el mismo o similares valores de grises, concentrando, por tanto, las mayores probabilidades de transición en la diagonal de la matriz. Muchos otros parámetros pueden generarse formando combinaciones, diferentemente ponderadas, de elementos en las matrices de probabilidad de transición (20, 81, 104).

La aproximación del análisis de gradientes trata una imagen como una función escalar y diferenciable de puntos de niveles grises. Los parámetros de texturas se basan en la tasa y dirección de la variación espacial de los niveles de grises. Por ejemplo, las medidas de texturas incluyen momentos estadísticos de histogramas de gradientes, medidas del contenido de los bordes locales (168, 189) y medidas de la segunda derivada calculadas a partir de operaciones laplacianas (divergencia del gradiente) (67, 85).

El análisis granulométrico es un método de descripción de texturas mediante la caracterización de texels o gránulos de acuerdo con su tamaño, forma, contenido en niveles de grises y distribución (107). Las imágenes con texels mal definidos pueden caracterizarse en función de sus cuerdas, donde una cuerda se define como un conjunto de puntos fotográficos adyacentes en una dimensión y dentro de un determinado rango de niveles de grises; en este caso los parámetros de texturas son los momentos estadísticos de los histogramas de la longitud de las cuerdas (108). Otros parámetros granulométricos describen gotas en una textura, donde una gota se define como un conjunto de puntos fotográficos, con niveles de grises por encima de un límite definido por

el operador, en el que dos puntos cualesquiera del conjunto pueden ser conectados por una línea que pasa sólo por otros puntos del conjunto. Los ejemplos de parámetros de gotas incluyen número de gotas, (18, 91) densidad de gotas (número de gotas por unidad de superficie), área de las gotas, probabilidad de colisión (área de la gota partido por el área de la imagen), longitud media de las gotas (número medio de puntos de la gota consecutivos) y nivel de grises medio de las gotas.

Un ejemplo de análisis de transformación ortogonal es el análisis de Fourier, en el que se mapean la imágenes a partir del dominio espacial hasta el dominio de frecuencias espaciales (6). La distribución de energía de la transformada bidimensional de Fourier produce medidas de la periodicidad de la imagen y del sesgo direccional (7). Las medidas de texturas pueden generarse calculando sumas y cocientes ponderados de la energía distribuida por diferentes regiones de un espacio transformado. Las geometrías de muestreo de energía tales como un semiplano de anillos anulares o cuñas se han investigado (109) y usado con distinto éxito (67, 77, 189).

El hiperparatiroidismo primario es la enfermedad mas frecuente de las glándulas paratiroides. Se considera que la causa más común es el adenoma o enfermedad de una sólo glándula seguido de la hiperplasia o enfermedad de varias glándulas y del carcinoma (37). No obstante, existe notable disparidad en cuanto a sus frecuencias relativas, debido a la falta de un cuadro morfológico recortado para cada una de las entidades. Asimismo, la gran variabilidad en peso y aspecto histológico descrito en glándulas consideradas normales, no ha permitido establecer de modo preciso la frontera entre glándula normal e hiperplásica.

C. DE LA PLOIDIA DEL ADN

Por otro lado, aunque se han indicado diversos criterios para distinguir entre hiperplasia y adenoma, sigue siendo un tema controvertido. El presente estudio cuantimétrico del ADN nuclear y de los patrones cromáticos markovianos para identificar variables subvisuales pretende facilitar la distinción entre enfermedad de una sólo glándula (adenoma) y enfermedad de varias glándulas (hiperplasia) en pacientes con hiperparatiroidismo primario. La muestra estudiada comprendía un total de 48 glándulas pertenecientes a 41 pacientes;

aunque la mayoría de las lesiones correspondían a enfermedad de una sola glándula y se observaron en 37 pacientes, el número de glándulas perteneciente al segundo grupo (4 pacientes) era comparable ya que estaba constituido por 11 muestras. En los resultados obtenidos no se ha encontrado función de clasificación con variables cariométricas (índices de ADN y variables markovianas) y peso glandular que permita la distinción entre lesiones uniglandulares y pluriglandulares. No obstante, hay que señalar que la poliploidía fue mas común entre las lesiones pluriglandulares. El porcentaje de lesiones con patrón aneuploide (hipodiploide, hiperdiploide y aneuploide sin clasificar) fue superponible en ambos tipos de lesiones. Estas observaciones estan en consonancia con las referidas previamente por BOWLBY y cols. (33) y JOENSUU y KEMI (95) que señalan que la aneuploidia no permite distinguir entre hiperplasia, adenoma y carcinoma de paratiroides. Recientemente, OBARA y cols. (138) describen en particular en hiperplasias del síndrome MEN I, una tasa alta de aneuploidía.

En la presente serie, la frecuencia de núcleos tetraploides por encima del 3% en lesiones uniglandulares alcanzó el 44.1% mientras que en las pluriglandulares fue del 27.3%. Estos hallazgos difieren de los

señalados por BENGTTSSON y cols. (21), HARLOW y cols. (82) y SHENTON y cols. (179), que refirieron una tasa muy baja de células tetraploides en hiperplasias; sin embargo, están en consonancia con los de IRVIN y BAGWELL (92), que señalaron la presencia de células tetraploides en glándulas aparentemente normales extirpadas a pacientes con adenomas pero no en glándulas de individuos sin enfermedad de paratiroides. SHENTON y cols. (179) encontraron una relación directa entre peso glandular e índice de tetraploidía superior al 25%. Nosotros no hemos podido ratificar esta observación a pesar de establecer niveles de corte en el 3%, 10%, y 25%. HARLOW y cols. (82) encontraron una población tetraploide superior al 10% en sólo 1 de 12 adenomas estudiados y concluyeron que la alta tasa de tetraploidía encontrada con citometría de flujo podría estar en relación con una dispersión celular defectuosa. En la presente serie hemos utilizado un citómetro estático, que permite la selección de células y evita la cuantificación de agregados celulares, y hemos confirmado la alta tasa de tetraploidía en las lesiones uniglandulares.

D. DE LAS CARACTERISTICAS ARQUITECTURALES

En la búsqueda de diferencias entre enfermedad de un glándula y varias glándulas, el test de homogeneidad ratificó algunas observaciones histológicas clásicas (37); en este sentido, señaló que en las lesiones pluriglandulares era mas frecuente el patrón arquitectural lobulado y la biomultinucleación, mientras que en las uniglandulares predominaba el patrón arquitectural difuso.

E. DE LA CELULARIDAD DE LA LESION

Aunque la celularidad mixta fue el cuadro citológico mas común, sólo las lesiones uniglandulares (10/36) presentaron exclusivamente células principales. En el pasado no muy lejano diversos autores (62, 142, 146) llamaron la atención sobre las células principales, como característica de afectación pluriglandular, lo cual condujo a terapias quirúrgicas radicales responsables de hipoparatiroidismo postoperatorio permanente (28, 36), ya que se sometía a paratiroidectomía subtotal a pacientes con una glándula aumentada de tamaño que presentaban un cuadro proliferativo de células principales y en las que una segunda

glándula de tamaño normal mostraba supuesta evidencia de este tipo de hiperplasia, cuando muy probablemente era normal.

En el análisis discriminante se seleccionaron dos variables (OBSHDT y TXNDT) capaces de clasificar correctamente el 61.3% y el 76.3% de las células principales y las células claras, respectivamente. Es de destacar que los índices de ploidía no permitieron discriminar entre estas dos poblaciones celulares. No obstante, la aneuploidía, la poliploidía y la tetraploidía superior al 3% fueron mas frecuentes entre las células principales.

F. CONSIDERACIONES TERAPEUTICAS

Una cuestión esencial, frecuentemente debatida en el ámbito de la terapéutica del hiperparatiroidismo primario, es si debe ofrecerse tratamiento quirúrgico a todos los pacientes, y en especial a aquellos con sintomatología escasa o nula (8, 9). Aunque la historia natural del hiperparatiroidismo primario no tratado parece ser mucho más benigna de lo que en un principio se había pensado (9), los estudios de seguimiento a largo plazo de pacientes asintomáticos revelan, en un

porcentaje de casos no despreciable, deterioro de la función renal y/o desarrollo de la enfermedad litiásica (177). Además la hipercalcemia, incluso cuando es mínima o moderada, conlleva una elevada morbilidad de enfermedades cardiovasculares, y es un importante factor de riesgo de muerte prematura (78, 143).

En los últimos años parece imponerse el criterio de recomendar la cirugía a todos los pacientes con hiperparatiroidismo primario, incluidos los asintomáticos (45, 114, 188). Sin embargo, la opinión de que un tratamiento conservador puede tener sus indicaciones, ha favorecido el desarrollo y aplicación de numerosos fármacos para el tratamiento médico del hiperparatiroidismo primario (9, 26). Entre otros, se han empleado el propranolol, la cimetidina, los fosfatos orales, la calcitonina, los estrógenos, la mitramicina y los difosfonatos (orales o intravenosos), principalmente la celulosa fosfato sódico (161) y el clodronato (96, 165). No todos han demostrado ser eficaces, pero sin duda han contribuido a un mejor conocimiento de la enfermedad paratiroidea, al desvelar alguno de sus oscuros aspectos fisiopatológicos (180).

Al estudiar las piezas de paratiroidectomía el patólogo debe conocer si el paciente ha sido tratado con alguno de estos fármacos. SOTSIOU y cols. (184) encontraron incrementos significativos del peso de las paratiroides en aquellos enfermos a los que se les había administrado cimetidina antes de la cirugía, y atribuyeron este hecho tanto al edema intersticial como a un mayor tamaño de las células parenquimatosas. Hallaron en estas últimas un aumento en el número de gránulos secretorios y, en un 70% de los casos, inclusiones intranucleares de naturaleza desconocida.

La estrategia quirúrgica que actualmente siguen la mayoría de los cirujanos exige la exploración bilateral del cuello y la identificación de las cuatro glándulas paratiroides (45, 58, 197), aunque TIBBLIN y cols. (191) estimaron rentable la exploración unilateral, en casos determinados. Cuando sólo una de ellas es patológica (adenoma solitario), se extirpa y se toma biopsia de alguna de las restantes. En los casos de hiperplasia difusa se realiza una paratiroidectomía subtotal (extirpación de tres glándulas y la mitad de la cuarta) o paratiroidectomía total con autotrasplante de un fragmento glandular en la masa muscular del antebrazo o el cuello.

Si todas las glándulas son anormales, se recomienda practicar además una timectomía transcervical porque en alrededor del 15% de los casos existe una glándula supernumeraria en esta localización (45). Cuando dos de las glándulas están aumentadas de tamaño y las dos restantes son normales (adenoma doble o hiperplasia asimétrica), las primeras deben extirparse y de las segundas debe tomarse biopsia (45, 197).

Este procedimiento quirúrgico "conservador" (extirpar únicamente las glándulas aumentadas de tamaño) ha limitado tanto los casos de hipoparatiroidismo yatrogénico como las hipocalcemia transitorias postquirúrgicas (58, 97, 191) y el mayor interés se centra ahora en el diagnóstico y tratamiento de los hiperparatiroidismos persistente y recurrente (43, 71, 113, 171). El primero, más frecuente, viene definido por la aparición de hipercalcemia durante los seis meses que siguen a la cirugía. En el hiperparatiroidismo recurrente la hipercalcemia reaparece después de un periodo normocalcémico postquirúrgico de al menos seis meses (71).

Las causas por las que puede fracasar un primer acto quirúrgico son numerosas y entre ellas, una incompleta extirpación en los casos de hiperplasia, la existencia de una glándula supernumeraria que no fue descubierta, la localización de un adenoma en posición ectópica, la extirpación incompleta de un carcinoma paratiroideo o simplemente un fallo atribuible a la inexperiencia del cirujano (71, 113)

La hiperfunción del tejido paratiroideo reimplantado (autotrasplante) puede también ser responsable de un HPT recurrente. Según McCALL y cols. (126) esta circunstancia ocurre exclusivamente cuando para ese fin se emplea tejido paratiroideo hiperplásico o adenomatoso. ELLIS (60) recomienda rechazar para autotrasplante aquellas glándulas que, en el estudio intraoperatorio, muestren atipia celular y frecuentes mitosis.

La incidencia de HPT recurrente es muy distinta según se trate de un HPT esporádico (menos del 1% en adenoma y entre el 3,5 y el 13% en hiperplasias); un HPT familiar (33%); un síndrome de neoplasia endocrina múltiple (33-54%) o un carcinoma paratiroideo (50%) (71). RUDBERG y cols. (171) hallaron hipercalcemia persistente en el 8% de

sus 441 pacientes, mientras que un HPT recurrente apareció en el 16% de los pacientes operados por hiperplasia (descubierto entre 1 y 9 años después de la operación) y en el 3% de los pacientes con adenoma (en ningún caso antes de los 9 años posteriores a la cirugía). Una diferencia similar entre hiperplasia y adenoma, en lo que se refiere a recurrencia, fue encontrada por WELLS y cols. (201). De los 295 pacientes estudiados por CLARK y cols. (43), tan solo once presentaron un hiperparatiroidismo recurrente y de ellos siete tenían un síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo 1 o un hiperparatiroidismo familiar.

VI. CONCLUSIONES

1. **La causa más frecuente de hiperparatiroidismo primario es la enfermedad de una sola glándula.**

2. **En el test de Kruskal-Wallis se seleccionaron 11 variables cuantitativas para diferenciar entre lesiones uniglandulares y pluriglandulares: peso, OBSZDT, OBSHDT, TXADT, TXCDT, TXHDT, TXIDT, TXKDT, TXLDT, TXMDT, TXNDT, pero ninguna de ellas soportó la prueba de la validación cursada.**

3. **El test de homogeneidad de la Chi-Cuadrado seleccionó dos variables discretas con valor significativo para la discriminación entre lesiones uniglandulares y pluriglandulares: el patrón de crecimiento (lobular y difuso) y la bi o multinucleación. El patrón difuso es más frecuente en las lesiones uniglandulares, mientras que el patrón lobular y la bi o multinucleación lo es en las pluriglandulares.**
4. **No existen diferencias en cuanto a la distribución del patrón ploide entre lesiones uniglandulares y pluriglandulares. No obstante, un patrón poliploide es más habitual en las lesiones pluriglandulares.**
5. **La tetraploide en una población superior al 3% fue más habitual en las lesiones uniglandulares.**
6. **En el análisis discriminante, la función de clasificación seleccionó dos variables cariométricas: DBSHDT y TXNDT para diferenciar entre células principales y células claras. La clasificación total**

correcta fue del 70,7% (67,9% para células principales y 78,9% para células claras).

7. Aunque no existen diferencias significativas en el patrón ploide entre células principales y células claras, la poliploidía, aneuploidía y tetraploidía superior al 3% fue levemente más común en las células principales.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. **AKERSTROM G, GRIMELIUS L, JOHANNSON H, LUNDQVIST H, PERTOFT H, BERGSTROM R.** The parenchymal cell mass in normal human parathyroid glands. **Acta Pathol Microbiol Scand, (A) 89: 367, 1981.**

2. **ALANEN KA, JOENSUU H, KLEMI PJ.** Autolysis is a potential source of false aneuploid peaks in flow cytometry DNA histograms. **Cytometry, 10: 417-425, 1989.**

3. ALBRIGHT F, BLOOMBERG E, CASTLEMAN B, CHURCHILL ED. Hyperparathyroidism due to diffuse hyperplasia of all parathyroid glands rather than adenoma of one. Clinical studies on three such cases.
Arch Intern Med, 54: 315-329, 1934
4. ALVERYD A. Parathyroid glands in thyroid surgery. I. Anatomy of parathyroid glands.
Acta Chir Scand (Suppl), 389: 1-48, 1989.
5. AMICO S, LUCAS P, DIEBOLD MD, LIEHN JC, PETIT J, VALEYRE J. Metastatic calcification in the thyroid gland demonstrated on bone scan in a patient with primary hyperparathyroidism.
J Nucl Med, 27: 373-376, 1986.
6. ANDREWS HC. Computer Techniques in Image Processing.
Academic Press, Nueva York, p. 73-133, 1970.

- 7. ANDREWS HC. Orthogonal transforms and feature selection in pattern recognition. Hawaii International Conference on Systems Science. Vol. 4, IEEE, Nueva York, p. 675-677, 1971.**

- 8. ANONIMO. Does mild, asymptomatic hyperparathyroidism require surgery?. Editorial.
N Engl J Med, 302: 224-225, 1980.**

- 9. ANONIMO. Tratamiento médico del hiperparatiroidismo primario. Editorial.
Lancet (ed. esp.), 6: 111-113, 1985.**

- 10. ANONIMO. Determinación de la causa de la hipercalcemia. Editorial.
Lancet (ed. esp.), 6: 425, 1985.**

- 11 ANONIMO. Parathyroid gland localisation. Editorial.
Lancet, 2: 727-727, 1986.**

-
12. ANONIMO. Weight loss and hypercalcemia in a 77 year old man.
Clinical Conference.
Am J Med, 81: 843-849, 1986.

 13. ARNOLD A, STAUNTON CE, KIM HG, GAZ RD,
KRONENBERG HM. Monoclonality and abnormal parathyroid
ademonas.
N Engl J Med, 318: 658-662, 1988.

 14. ARNOLD A, KIM HG. Clonal loss of one chromosome II in a
parathyroid ademonas.
J Clin Endocrinol Metab, 69: 496-499, 1989.

 15. ARNOLD A, KIM HG, GAZ RD, EDDY RR, FUKUSHIMA Y,
BEYERS MG, SHOWS TB, KRONENBERG HM. Molecular
Cloning and chromosomal mapping of DNA rearranged with the
parathyroid hormone gene in a parathyroid ademonas.
J Clin Invest, 83: 2024-2040, 1989.

-
16. ATTIE JN, BOCK G, AUGUSTE L. Multiple parathyroid adenomas: Report of thirty-three cases.
Surgery, 108: 1014-1020, 1990.
 17. AUFFERMANN W, GOODING GA, OKERLUND MD. Diagnosis of recurrent hyperparathyroidism: comparison of MR imaging and other imaging techniques.
AJR, 150: 1027-1033, 1988.
 18. BACUS JW. Leukocyte pattern recognition. IEEE Trans Systems. Man, Cybernetics SMC-2: 513, 1972.
 19. BACUS JW, GRACE LJ. Optical microscope system for standardized cell measurements and analysis.
Appl Optics, 26: 3280-3294, 1987.
 20. BARTELS PH, BAHR GF, WIED GL. Cell recognition from line scan transition probability profiles.
Acta Cytol, 13: 210, 1969.

-
21. **BENGTSSON A, GRIMELIUS L, JOHANSEN H, PONTEN J.**
Nuclear DNA content of parathyroid cells in adenomas,
hyperplastic and normal glands.
Acta Pathol Microbiol Scand (A), 85: 455-460, 1977.
 22. **BENNETT JT, ALEXANDER HH, MORRISSY RT.** Parathyroid
adenoma presenting as a pathologic fracture of the femoral neck
in an adolescent.
J Pediatr Orthop, 6: 473-476, 1986.
 23. **BIBBO M, BARTELS PH, GALERA-DAVIDSON H, DYTCH HE,**
WIED GL. Markers for malignancy in nuclear texture of
histologically normal tissue from patients with thyroid tumors.
Analyt Quant Cytol Histol, 8: 168-176, 1986.
 24. **BIBBO M, BARTELS PH, SALGUERO M, DYTCH HE, LERMA**
E, GALERA-DAVIDSON H. Karyometric marker features in fine
needle aspirates of microinvasive follicular carcinoma of the
thyroid.
Analyt Quant Cytol Histol, 12: 42-47, 1990.

-
25. **BIBBO M, BARTELS PH, DYTCH HE, WIED GL. Cell Image Analysis. En: Bibbo M (ed). Comprehensive Cytopathology. Filadelfia, WB Saunders Co., pp. 965-983, 1991.**
 26. **BILEZIKIAN JP. The medical management of primary hyperparathyroidism.
Ann Intern Med, 96: 198-202, 1982.**
 27. **BLACK W, UTLEY JR. The differential diagnosis of parathyroid ademona and chief cell hyperlasia.
Am J Clin Pathol, 49: 761-775, 1968.**
 28. **BLOCK MA, FRAME B, JACKSON CE, HORN RC. The exent of operation for primary hyperparathyroidism.
Arch Surg, 109: 798-801, 1974.**
 29. **BLOCK MA, FRAME B, JACKSON CE, HORN RC. Primary diffuse microscopical associated with of the parathyroid glands. Surgical importance. Arch Surg, 111: 348-354, 1976.**

30. **BÖCKING A, ADLER CP, COMMON HH.** Algorithm for a DNA-cytophotometric diagnosis and grading of malignancy.
Analyt Quant Cytol Histol, 6: 1-8, 1984.

31. **BÖCKING A, AUFFERMANN W.** Algorithm for DNA-cytophotometric diagnosis and grading of malignancy.
Analyt Quant Cytol Histol 8: 363, 1986.

32. **BONDENSON AG, BONDENSON L, LJUNGBERG O.** Chronic parathyroiditis associated with parathyroid hiperlasia and hyperparathyroidism.
Am J Surg Pathol, 8: 211-215, 1984.

33. **BOWLBY IS, DeBAULT LE, ABRAHAN SR.** Flow cytometric DNA analysis of parathyroid glands. Relationship between nuclear DNA and pathologic classifications.
Am J Pathol, 128: 338-344, 1987.

34. **BRENNAN MF, NORTON JA.** Reoperation for persistent and recurrent hyperparathyroidism.



Ann J Surg, 201: 40-44, 1985.

35. BROUGHAN TA, JAROCH MT, ESSELSTYN CB. Parathyroid hormone assay. Unreliable and overused.

Arch Surg, 121: 841-842, 1986.

36. BRUINING HA. Surgical treatment of hyperparathyroidism. Springfield, IL. Charles C Thomas, 1971.

37. CARNEY JA. Pathology of Hyperparathyroidism: A practical approach. En: LiVolsi V y De Lellis RA (Eds). Pathology of the parathyroid and thyroid glands. Monograph in Pathology nº 35. Williams and Wilkins, Baltimore, 1993, pp 34-62.

38. CASTLEMAN B, MALLORY TB. Parathyroid hyperplasia in chronic renal insufficiency.

Am J Pathol, 13: 553-574, 1937.

-
39. CASTLEMAN B. Tumors of the parathyroid glands. En: Atlas of Tumor Pathology. Washington, DC. Armed Forces Institute of Pathology, 1952.
 40. CASTLEMAN B, ROTH SI. Tumors of the parathyroid glands. En: Atlas of Tumor Pathology. Serie 2, Fasc. 14. Washington, DC. Armed Forces Institute of Pathology, 1977.
 41. CHALMERS J, IRVINE GB. Fractures of the femoral neck in elderly patients with hyperparathyroidism. Clin Orthop, 229: 125-130, 1988.
 42. CHARBONEAU JW, HAY ID, VAN HEERDEN JA. Persistent primary hyperparathyroidism successful ultrasound-guided percutaneous ablation of an occult adenoma. Mayo Clin Proc, 63:913-917, 1988.
 43. CLARK OH, WAY LW, HYNT TK. Recurrent hyperparathyroidism. Ann Surg, 184: 391-402, 1976.

-
44. CLARK OH, OKERLUND MD, MASS AA ET AL. Localization studies in patients with persistent or recurrent hyperparathyroidism.
Surgery, 98: 1083-1094, 1985.
 45. CLARK OH, DUH QY. Primary hyperparathyroidism. A surgical perspective.
Endocrin Metab Clin N Am, 18: 701-714, 1989.
 46. COPE O, KEYNES WM, ROTH SI, CASTLEMAN B. Primary chief-cell hyperplasia of the parathyroid glands: A new entity surgery of hyperparathyroidism.
Ann Surg, 148: 375-388, 1958.
 47. COPE O. The story of hyperparathyroidism at the Massachusetts General Hospital.
N Engl J Med, 274: 1174-1182, 1966.
 48. DAWSON AE, CIBAS ES, BACUS JW, WEINBERG DS. Chromatin texture measurement by Markovian analysis.

Analyt Quant Cytol Histol, 15: 227-235, 1993.

- 49. DEKKER A, DUNSFORD HA, GEYERS SJ. The normal parathyroid gland at autopsy: The significance of stromal fat in adult patients.**
J Pathol, 128: 127-132, 1979.
- 50. DEKKER A, WATSON CG, BARNES EL. The pathologic assessment of primary hyperparathyroidism and its impact on therapy. A prospective evaluation of 50 cases with oil-red-O stain.**
Ann Surg, 190: 671-675, 1979.
- 51. DENNISON A, BALL M, DUDLEY N. Preoperative percutaneous localisation of parathyroid tumors: a preliminary report.**
Ann R Coll Surg Engl, 67: 276-278, 1985.
- 52. DIAZ P DE MADRID J, MUÑOZ M, ESCOBAR F, RODRIGUEZ E, ZULOAGA A, MORALES I. Perfil bioquímico del hiperparatiroidismo primario. Estudio comparativo con la litiasis renal hipercalcémica.**

-
- Med Clin, 92: 481-483, 1989.
53. DUBOST CL, BOUCAUT PH. Hiperparatiroidismo primario.
Estudio retrospectivo de 500 casos.
Nouv Presse Med (ed. esp.), 1: 309-312, 1982.
54. DUFOUR DR, WILKERSON SY. The normal parathyroid
revisited: Percentage of stromal fat.
Hum Pathol, 13: 717-721, 1982.
55. DUFOUR DR, WILKERSON SY. Factors related to parathyroid
weight in normal persons.
Arch Pathol Lab Med, 107: 107-172, 1983.
56. DUFOUR DR, MARX SJ, SPIEGEL AM. Parathyroid gland
morphology in nonparathyroid hormone-mediated hypercalcemia.
Am J Surg Pathol, 9: 43-51, 1985.
57. DUH QY, SANCHO JJ, CLARK OH. Parathyroid localization.
Clinical review.

Acta Chir Scand, 153. 241-254, 1987.

58. EDIS AJ, BEAHRS OH, VAN HEERDEN JA, AKWARI OE.
"Conservative" versus "liberal" approach to parathyroid neck
exploration.
Surgery, 82: 466-473, 1977.
59. EINSENBURG H, PALLOTTA J, SACKS B, BRICKMAN AS.
Parathyroid localization, y three-dimensional modeling, and
percutaneous ablation techniques.
Endocrin Metab Clin North-America, 18: 631-646, 1989.
60. ELLIS HA. Fate of long-term parathyroid autografts in patients
with chronic renal failure treated by parathyroidectomy: a
histopathological study of autografts, parathyroid glands and
bone.
Histopathology, 13: 289-309, 1988.
61. ERIKSEN EF, MOSEKILDE L, MELSEN F. Trabecular bone
remodeling and balance in primary hyperparathyroidism.

- Bone, 7: 213-221, 1986.
62. ESSELSTYN CB, LEVIN HS, EVERS MAN JJ, SCHUMACHER OD, SKILLERN PG. Reappraisal of parathyroid pathology in hyperparathyroidism.
Surg Clin North Am, 54: 443-447, 1974.
63. ESTEBAN JM, SHEIBANI K, OWENS M, JOYCE J, BAILEY A, BATTIFORA H. Effects of various fixatives and fixation conditions on DNA ploidy analysis. A need for strict internal DNA standards.
Am J Clin Pathol, 95: 60-466, 1991.
64. FELLNER SK, SPARGO BH. Nephrotic syndrome from hypercalcemia in a patient with primary hyperparathyroidism.
Am J Med, 83: 355-358, 1987.
65. FITKO R, ROTH SI, HINES JR, ROXE DM, CAHILL E. Parathyromatosis in hyperparathyroidism.
Hum Pathol, 21: 234-237, 1990.

-
66. FITZPATRICK LA, BILEZIKIAN JP. Acute primary hyperparathyroidism.
Am J Med, 82: 275-282, 1987.
67. FLOWER DW. A note on the automatic generation and recognition of textures. National Aeronautics and Space Administration. Tech Note TN D-5933, 1971.
68. FRANCIS RM, BYNOE AG, GRAY C. Hypercalcemia due to the coexistence of parathyroid adenoma and myelomatosis.
J Clin Pathol, 35: 732-736, 1982.
69. GALERA-DAVIDSON H, BIBBO M, BARTELS PH, DYTCH HE, GONZALEZ-CAMPORA R, SANCHEZ F, WIED GL. Differential diagnosis between follicular adenoma and follicular carcinoma of the thyroid by marker features.
Analyt Quant Cytol Histol, 8: 195-200, 1986.
70. GALERA-DAVIDSON H, BARTELS PH, FERNANDEZ A, DYTCH HE, LERMA E, BIBBO M. Karyometric marker features

in fine needle aspirates of invasive follicular carcinoma of the thyroid.

Analyt Quant Cytol Histol, 12: 35-41, 1990.

71. GAZ RD. Recurrent or persistent hyperparathyroidism: surgical approach. En: Cady B y Rossi RL (eds): *Surgery of the thyroid and parathyroid glands*. 3ª ed. Filadelfia, WB Saunders, pp. 295-308, 1991.
72. GILMOUR JR, MARTIN WJ. The weight of the parathyroid glands.
J Pathol, 44: 431-462, 1937.
73. GILMOUR JR. The embryology of the parathyroid glands, the thymus and certain associated rudiments.
J Pathol, 45: 507-522, 1937.
74. GIMLETTE TM, BROWNLESS SM, TAYLOR WH, SHILELDS R, SIMKIN EP. Limits to parathyroid imaging with thallium-201 confirmed by tissue uptake and phantom studies.

-
- J Nucl Med, 27: 1262-1265, 1986.
75. GRANT C, RAPADO A, ESBRIT P. Papel de las alteraciones del metabolismo mineral en la hipertensión arterial del hiperparatiroidismo primario. Análisis de 150 casos. Med Clin, 89: 50-53, 1987.
76. GUTEKUNST R, VALESKY A, BORISCH B ET AL. Paratyroid localization. J Clin Endocrinol Metab, 63: 1390-1393, 1986.
77. HALL EL, KRUGER RP, DWYER SJ III, HALL DL, McLAREN RW, LODWICK GS. A survey of preprocessing and feature extraction techniques for radiographic images. IEEE Trans Computers C-20: 1032, 1971.
78. HAMILTON DV, PRYOR JS, GREEN NA. Morbidity of hyperparathyroidism. Lancet, 1: 559, 1987.

-
79. HANTY M, SWARTZ K, MCCLUNG M, LOWE DK. Technetium-thallium scintiscanning for localization of parathyroid adenomas and hyperplasia. A reappraisal.
Am J Surg, 153: 479-486, 1987.
80. HARADA S, MATSUMOTO T, IKEDA K, FUKUMOTO S, IHARA Y, OGATA E. Association of primary hyperparathyroidism with myotonic dystrophy in two patients.
Arch Intern Med, 147: 777-778, 1987.
81. HARALICK RM, SHANMUGAM K, DINSTEN I. Textural features for image classification.
IEEE Trans Systems, Man, Cybernetics SMC-3: 610, 1973.
82. HARLOW S, ROTH SI, BAUER K, MARSHALL RB. Flow cytometric DNA analysis of normal and pathologic parathyroid glands.
Mod Pathol, 4: 310-315, 1991.

-
83. HARNEES JK, RAMSBURG SR, NISHIYAMA RH, THOMPSON NW. Multiple adenomas of the parathyroids: Do they exist?
Arch Surg, 114: 468-474, 1979.
84. HAWKINS F, LEON M. Hiperparatiroidismo primario.
An Med Intern, 3: 463-465, 1986.
85. HAWKINS JK. Image processing principles and techniques.
Adv Inform Systems Sci, 3: 113, 1970.
86. HAYNE ST, DIESTELMIER S, JOHNSON EA, BRAUND RR Jr.
Polycythemia vera, primary hyperparathyroidism, and dysplastic
nevus syndrome: report of a case.
Am J Clin Pathol, 83: 512-516, 1985.
87. HEALTHDA. Primary hyperparathyroidism. Clinical presentation
and factors influencing clinical management.
Endocrin Metab Clin N Am, 18: 631-646, 1989.

-
88. HEATH H III, HODGSON SF, KENNEDY MA. Primary hyperparathyroidism. Incidence, morbidity and potential economic impact in a community.
N Engl J Med, 302: 189-193, 1980.
89. HEDLEY DW, FRIEDLANDER ML, TAYLOR IW, RUGG CA, MUSGROVE EA. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry.
J Histochem Cytochem, 31: 1333-1335, 1983.
90. HOWARD S, ANDERSON C, DIELS W, GERRES K, GARCIA B. Nuclear DNA density of parathyroid lesions.
Pathol Res Pract, 188: 497-499, 1992.
91. INGRAM M, NORNGREN PE, PRESTON K Jr. Advantages of topology as a basis for automatic analysis of blood cell images.
Ann NY Acad Sci, 157: 275, 1969.
92. IRVIN GL, BAGWELL CB. Identification of histologically undetectable parathyroid hyperplasia by flow cytometry.

Am J Surg, 138: 567-571, 1979.

93. IRVIN GL III, TAUPIER MA, BLOCK NL, REISS E. DNA patterns in parathyroid disease predict postoperative parathyroid hormone secretion. *Surgery*, 104: 1115-1120, 1988.
94. JACKSON CE, NORUM RA, BOYD SB, TALPOS GB, WILSON SD, TAGGARTT, MALLETE IE. Hereditary hyperparathyroidism and multiple ossifying jaw fibromas: A clinically and genetically distinct syndrome.
Surgery, 108: 1006-1013, 1990.
95. JOENSUU H, KLEMI P. DNA aneuploidy in adenomas of endocrine organs.
Am J Pathol, 132: 145-151, 1988.
96. JÜNGST D. Eficacia del clodronato disódico en el tratamiento de la hipercalcemia grave debida a carcinoma de paratiroides.
Lancet (ed. esp.), 6: 221, 1985.

-
97. KAPLAN EL, BARTLETT S, SUGIMOTO J, FREDLAND A. Relation of postoperative hypocalcemia to operative techniques: deleterious effect of excessive use of parathyroid biopsy. *Surgery*, 92: 827-834, 1982.
98. KAPLAN FS, SOFFER SR, FALLON MD, HADDAD JG, DALINKA M, RAFFENSPERGER EC. Osteomalacia as a very late manifestation of primary hyperparathyroidism. *Clin Orthop*, 228: 26-32, 1988.
99. KATZ JH, DIAS SM, FERGUSSON RP. Fatal cardiac calcifications secondary to primary hyperparathyroidism. *Am J Med*, 85: 122-123, 1988.
100. KNEELAND JB, KRUBSACK AJ, LAWSON TL ET AL. Enlarged parathyroid glands: high resolution local coil MR imaging. *Radiology*, 162: 143-146, 1987 y 164: 586, 1987.

-
101. **KOBAYASHI S, MIYAKAWA M, KASUGA Y ET AL. parathyroid imaging: comparison scintigraphy, computed tomography and ultrasonography.**
Jpn J Surg, 17: 9-13, 1987.

 102. **KOS LG, CZERNIAK B, HERZ F, WERSTO RP. Flow cytometric measurements of DNA and other cell components in human tumors: a critical appraisal.**
Hum Pathol, 20: 528-548, 1989.

 103. **KRAUSE MW, HEDINGER CE. Pathologic study of parathyroid glands in tertiary hyperparathyroidism.**
Hum Pathol, 16: 772-784, 1985.

 104. **KRUGER RP, THOMPSON WB, TURNER AF. Automated detection of abnormal lung fields from the routine P-A chest radiograph. Proceedings of the San Diego Biomedical Symposium. IEEE, Nueva York, p. 1-10, 1973.**

-
105. KUNTZ JL, SUTTER B, SALAMITO D, BLOCH JG, SCHNEIDER P, ASCH L. Hyperparathyroidism and polymyositis. *Rev Rheum Mal Osteoartic*, 55: 287-290, 1988.
106. LAW WM Jr, CARNEY JA, HEATH H III. Parathyroid glands in familial benign hypercalcemia (familial hypocalciuric hypercalcemia). *Am J Med*, 76: 1021-1026, 1989.
107. LEDLEY RS. Texture problems in biomedical pattern recognition. *IEEE Conference on Decision and Control*. IEEE, Nueva York, p. 590-595, 1972.
108. LEITZ E. *Leitz classimat: automatic image analysis theory of measurement and data processing*. Ernst Leitz Gmbh, Wetzlar, Alemania, 1970.
109. LENDARIS GG, STANLEY GL. Diffraction-pattern sampling for automatic pattern recognition. *Proc IEEE*, 58: 198, 1970.

-
110. LERMA-PUERTAS E, GALERA-DAVIDSON H, BARTELS PH, KIM DH, DYTCH HE, BIBBO M. Karyometric marker features in fine needle aspirates of follicular adenoma of the thyroid. *Analyt Quant Cytol Histol*, 12: 223-228, 1990.
111. LEVIN KE, GOODING GA, OKERLUND M EL AL. Localizing studies in patients with persistent or recurrent hyperparathyroidism. *Surgery*, 102: 917-925, 1987.
112. LEVIN KE, CHEW KL, BRITT-MARIE L, MAYALL BH, SIPERSTEIN AE, CLARK OH. Deoxiribonucleic acid cytometry helps identify parathyroid carcinomas. *J Clin Endocr Metab*, 67: 779-784, 1988.
113. LEVIN KE, CLARK OH. The reasons for failure in parathyroid operations. *Arch Surg*, 124: 911-915, 1989.

-
114. **LIVOLSI VA. Pathology of the parathyroid glands. En: Barnes L (ed.). Surgical Pathology of the Head and Neck. New York, Marcel Dekker Inc, pp. 1487-1564, 1985.**
115. **LLADOS J, LUCAS T, ESTRADA J, SALTO L, BARCELO B. Tiroiditis de Hashimoto e hiperparatiroidismo: ¿una asociación casual?. Rev Clin Esp, 180: 119-120, 1987.**
116. **LUCAS T, FELIP A, MORATO J. Hyperparatiroidismo primario agudo. Med Clin, 80: 75-79, 1983.**
117. **LUFKIN EG, KAO PCH, HEATH III H. Parathyroid hormone radioimmunoassays in the differential diagnosis of hypercalcemic due to primary hyperparathyroidism or malignancy. Ann Intern Med, 106: 559-560, 1987.**
118. **LUM G, DESHOTELS SJ. The clinical usefulness of an algorithm for the interpretation of biochemical profiles with hypercalcemia.**

- Am J Clin Pathol, 78: 479-484, 1982.
119. **MADDOX PA, GARTH WP Jr. Tendinitis of the patellar ligament and quadriceps (jumper's knee) as an initial presentation of hyperparathyroidism. A case report.**
J Bone Joint Surg (Am), 68: 288-292, 1986.
120. **MALLETTE LE, MALINI S, RAPPAPORT MP, KIRKLAND JL. Familial cystic parathyroid adenomatosis.**
Ann Inter Med, 107: 54-60, 1987.
121. **MANDL F. Hyperparathyroidism. A review of historical developments and the present state of knowledge of the subject.**
Recent Adv Surg, 21: 394-440, 1947.
122. **MANGILI F, SASSI I, SCHIAFFINO E, ZOGNO C, CANTABONI A, SCHMID C. The use of flow cytometry in the study of parathyroid hyperplasia and adenomas.**
Pathologic, 84: 459-465, 1992.

-
123. MARTINEZ-ALBADALEJO M, HERRERO-SAGASTUME V.
Hiperparatiroidismo primario en un paciente con colitis ulcerosa
y diabetes mellitus.
An Med Intern, 6: 274-275, 1989.
124. MASLACK MM, BROSBE RJ. Dual isotope parathyroid imaging.
Clin Nucl Med, 11: 622-626, 1986.
125. MATTHIAS GS, HELLIWELL TR, WILLIAMS A. Postpartum
hyperparathyroidism crisis. Case report.
Br J Obstet Gynaecol, 94: 807-810, 1987.
126. McCALL AR, CALANDRA D, LAWRENCE AM, HENKIN R,
PALOYAN E. Parathyroid hyperparathyroidism: the role of
thallium scanning.
Surgery, 100: 614-620, 1986.
127. McCALL A, HENKIN R, CALANDRA D, LAWRENCE AM,
JAROSZ H, PALOYAN E. Routine use of thallium-technetium
scan prior to parathyroidectomy.

- Am Surg, 53: 380-384, 1987.
128. MESSNER M, LOUBOUTIN JY, GAULIER A. Adenoma hepático degenerado y adenoma paratiroideo. Relación con un tratamiento hormonal o una poliadenomatosis.
Nouv Presse Med (ed. esp.), 1: 25-26, 1982.
129. MINCIONE GP, BORRELLI D, CICCHI P, IPPONI PL, FIORINI A. Fine needle aspiration cytology of parathyroid adenoma. A review of seven cases.
Acta Cytol, 30: 65-69, 1986.
130. MOLL UM, ILARDI CF, ZUNA R, PHILLIPS ME. A biologically active parathyroid hormone-like substance secreted by an adenosquamous carcinoma of the transverse colon.
Hum Pathol, 18: 1287-1290, 1987.
131. MULLER H. True recurrence of hyperparathyroidism: Proposed criteria of recurrence.
Br J Surg, 62: 556-559, 1975.

132. MUNDIS RJ, KYLE RA. Primary hyperparathyroidism and monoclonal gammopathy of indetermined significance.
Am J Clin Pathol, 77: 619-621, 1982.
133. MUNDY GR, COVE DH, FISKEN R. Primary hyperparathyroidism: changes in the pattern of clinical presentation.
Lancet, 1: 1317-1320, 1980.
134. MUÑOZ M, DIAZ J, ESCOBAR-JIMENEZ ET AL. Localización de las paratiroides.
Rev Clin Esp, 182: 203-205, 1988.
135. NOGATA N, YASUMOTO Y, KUGAI N Et AL. Parathyroid hormone-related protein and extract from a breast cancer associated with humoral hypercalcemia of malignancy.
Jpn J Clin Oncol, 19: 353-359, 1989.
136. NOGUCHI Y, TENJIN Y. A scene-segmentation method for multispectral cell images.



Analyt Quant Cytol Histol, 6: 211, 1984.

- 137. OBARA T, FUJIMOTO Y, HIRAYAMA A, KANAJI Y, ITO Y, KODAMA T, OGATA T. Flow cytometric DNA analysis of parathyroid tumors with special reference to its diagnostic and prognostic value in parathyroid carcinoma.**

Cancer, 65: 1783-1793, 1990.

- 138. OBARA T, FUJIMOTO Y, KANAJI Y, OKAMOTO T, HIRAYAMA A, ITO Y, KODAMA T. Flow cytometric DNA analysis of parathyroid tumors: implication of aneuploidy for pathologic and biologic classification.**

Cancer, 66: 1555-1562, 1990.

- 139. OLMOS J, AMADO J, GONZALEZ-MACIAS J, CUADRADO MA. Hipercalcemia por hiperparatiroidismo primario en una paciente con leucemia linfoide crónica.**

Med Clin, 89: 65-67, 1987.

-
140. **ORDOÑEZ NG, SAMAAN NA, IBAÑEZ ML, HICKEY RC.** Immunoperoxidase study of uncommon parathyroid tumors. Report of two cases of nonfunctioning parathyroid carcinoma and one intrathyroid parathyroid tumor-producing amyloid. *Am J Surg Pathol*, 7: 535-542, 1983.
141. **PABLOS PL DE, RAMOS I, CALLE H DE LA.** Brown tumor in the palate associated with primary hyperparathyroidism. *J Oral Maxillofac Surg*, 45: 719-720, 1987.
142. **PALMER JA, BROWN WA, KERR WH, ROSEN IB, WALTERS NA.** The surgical aspects of hyperparathyroidism. *Arch Surg*, 110: 1004-1007, 1975.
143. **PALMER M, BERGSTRÖM R, AKERSTRÖM G, ADAMI HO, JAKOBSSON S, LJUNGHALL S.** Survival and renal function in untreated hypercalcaemia. Population based cohort study 14 years of follow-up. *Lancet*, 1: 59-62, 1987.

-
144. PALMER M, LJUNGHALL S, AKERSTRÖM G. Patients with primary hyperparathyroidism operated on over a 24-year period: temporal trends of clinical and laboratory findings. *J Chronic Dis*, 40: 121-130, 1987.
145. PALMIERY GMA, BERTORINI TE, NUTTING DF. Calcio y presión arterial. *Lancet (ed. esp.)*, 10: 230-231, 1987.
146. PALOYAN E, LAWRENCE AM, STRAUSS FM. *Hyperparathyroidism*. New York, Grune & Stratton, 1973.
147. PAPOULIS A. *Probability, random variables and stochastic processes*. McGraw-Hill, Nueva York, p. 515-553, 1965.
148. PARRISH CM, O'DAY DM. Brown tumor of the orbit. Case report and review of the literature. *Arch Ophthalmol*, 104: 1199-1202, 1986.

-
149. PARZEN E. Modern probability theory and its applications. John Wiley, Nueva York, p. 136-147, 1969.
150. PATRI B, VILDE F, THIBIER G, LOISON F, DUBRISAY J. Hyperparathyroidism with multiple visceral calcifications. Rev Rheum Mal Osteoartic, 52: 499-502, 1985.
151. PEARSE AGE, TAKOR TT. Neuroendocrine embryology and the APUD concept. Clin Endocrinol (Oxf.) (Suppl), 5: 2293-2445, 1976.
152. PERCIVAL RC, BLAKE GM, URWIN GH, TALBOT CH, WILLIAMS JL, KANIS JA. Assessment of thallium-pertechnetate subtraction scintigraphy in hyperparathyroidism. Br J Radiol, 58: 131-135, 1985.
153. POWELL D, SHIKIM PM, DOPPMAN JL ET AL. Primary hyperparathyroidism. Preoperative tumor localization and differentiation between adenoma and hyperplasia. N Engl J Med, 286: 1169-1175, 1972.

-
154. POWEL D, SINGER FR, MURRAY TM, MINKIN C, POTTS JT. Nonparathyroid humoral hypercalcemia in patients with neoplastic disease. *N Engl J Med*, 289: 170-181, 1973.
155. PRESSMAN NJ. Introduction to the measurement of texture in biomedical images. Lawrence Livermore Laboratory. Livermore, California. Report UCRL-51864, 1975.
156. PRESSMAN NJ. Markovian analysis of cervical cell images. *J Histochem Cytochem*, 24: 138-144, 1976.
157. PRINZ RA, BARBATO AL, BRAITHWAITE SS, BROOKS MH, EMANUELE MA, GORDON DL, LAWRENCE AM, PALIYAN E. Simultaneous primary hyperparathyroidism and nodular thyroid disease. *Surgery*, 93: 454-458, 1982.
158. PURNELL DC, SCHOLZ DA, BEAHR OH. Hyperparathyroidism due to single gland enlargement. Prospective postoperative study. *Arch Surg*, 112: 396-372, 1977.

-
159. RALSTON SH, DRYBURGH FJ, COWAN RA, BOYCE BF, GARDNER MD, BOYLE IT. Hipercalcemia maligna. *Lancet (ed. esp.)*, 7: 152, 1985.
160. RANDEL SB, GOODING GA, CLARK OH, STEIN RM, WINKLER B. Parathyroid variants: US evaluation. *Radiology*, 165: 191-194, 1987.
161. RAPADO A, CASTRILLO JM, ESBRIT P, BARRANCO L, PIEDRA C DE LA, TRABA ML. Resultados de la administración de celulosa fosfato sódico como tratamiento médico del hiperparatiroidismo primario. *Med Clin*, 82: 702-704, 1984.
162. RAPADO A, SAN ROMAN JM. 213 hiperparatiroidismos primarios operados. Algo más que una casuística. *Rev Clin Esp*, 184: 482-484, 1989.

-
163. RATTNER DW, MARRONE GC, KASDON E, SILEN W. Recurrent hyperparathyroidism due to implantation of parathyroid tissue. Am J Surg, 149: 745-748, 1985.
164. REDDICK RL, COSTA JC, MARX SJ. Parathyroid hyperlasia an parathyromatosis. Lancet (Letter), 1: 549, 1977.
165. RICO H, CABRANES JA, HERNANDEZ ER, OLMO J DEL, ESCUDERO G. Utilidad del clodronato (Cl₂MDP) en el tratamiento del hiperparatiroidismo primario postmenopáusico. Med Clin, 90: 535-537, 1988.
166. RO JY, AYALA AG, EL-NAGGAR A. Muscularis mucosa of urinary bladder: importance for staging and treatment. Am J Surg Pathol, 11: 668-673, 1987.

-
167. RODE J, DHILLON AP, COTTON PB, WOLF A, O'RIORDAN JL. Carcinoid tumour of stomach and primary hiperparathyroidism: a new association.
J Clin Pathol, 40: 546-551, 1987.
168. ROSENFELD A, TROY EB. Visual texture analysis. IEEE Conference Record of the Symposium on Feature Extraction and Selection in Pattern Recognition. IEEE, Nueva York, p. 115-124, 1970.
169. ROTH SI. Recent advances in parathyroid gland pathology.
Am J Med, 50: 6112-622, 1971.
170. ROTH SI, GALLAGER MJ. The rapid identification of "normal" parathyroid glands by the presence of intracellular fat.
Am J Pathol, 84: 521-528, 1976.
171. RUDBERG C, AKERSTRÖM G, PALMER M. Late results of operation for primary hiperparathyroidism in 441 patients.
Surgery, 99: 643-651, 1986.

-
172. RUTLEDGE R, STIEGEL M, THOMAS CG, WILD RE, The relation of serum calcium and immunoparathormone levels to parathyroid size and weight in primary hyperparathyroidism. *Surgery*, 89: 1107-1112, 1985.
173. SAXE AW, LINCENBERG S, HAMBURGER SW. Can the volume of abnormal parathyroid tissue be predicted by preoperative biochemical measurement?. *Surgery*, 102: 840-845, 1987.
174. SCHANTZ A, CASTLEMAN B. Parathyroid carcinoma. A study of 70 cases. *Cancer*, 31: 600-605, 1973.
175. SCHIAFFINO E, ZOGNO C, SCHMID C, MANGILI F, CANTABONI A. Optical and ultrastructural morphology in hyperparathyroidism during dialysis. *Pathologica*, 84: 445-458, 1992.

-
176. SCHIANO A, BLANC P, SOMMA H, SCHIRO S, POUGET J, SERRATRICE G. Probable degeneration of a hyperparathyroidism brown tumor.
Rev Rheum Mal Osteoartic, 54: 325-328, 1987.
177. SCHOLZ DA, PURNELL DC. Asymptomatic primary hyperparathyroidism: 10 year prospective study.
Mayo Clin Proc, 56: 473-478, 1981.
178. SHENKER Y, LLOYD RV, WEATHERBEE L, PORT FK, GREKIN RJ, BARKAN AL. Ectopic prolactinoma in a patient with hyperparathyroidism and abnormal sellar radiography.
J Clin Endocr Metab, 62: 1065-1069, 1986.
179. SHENTON BK, ELLIS H, JOHNSTON ID, FARNDON JR. DNA analysis and parathyroid pathology.
World J Surg, 14: 301, 1990.
180. SHERWOOD JK, ACKROYD FW, GARCIA M. Cimetidina e hiperparatiroidismo primario.

Lancet (ed. esp.), 6: 291-292, 1985.

181. SILVERBERG SG. Imprints in the intraoperative evaluation of parathyroid disease.

Arch Pathol, 100: 375-378, 1975.

182. SIMO R, MESA J, OBIOLS G, TRESANCHEZ JM, VALLES M, AGUADE S. Utilidad de la gammagrafía con ^{201}Tl -cloruro en el diagnóstico de localización preoperatoria del hiperparatiroidismo primario.

Med Clin, 88: 814-816, 1987.

183. SOFIANIDES T, CHANG YS, LEARY JS, NICHOLS FX. Localization of parathyroid adenomas by cervical esophagram.

J Clin Endocr Metab, 46: 587-592, 1978.

184. SOTSIU FC, SINGHELLAKIS PN, NIKOU AD. The effect of cimetidina on parathyroid function and histopathology in primary hyperparathyroidism.

J Pathol, 151: 271-278, 1987.

-
185. SPRITZER CE, GEFTER WB, HAMILTON R, GREENBERG BM, AXEL L, KRESSEL HY. Abnormal parathyroid glands: high-resolution MR imaging. *Radiology*, 162: 487-491, 1987.
186. STEINER AL, GOODMAN AD, POWERS AR. Study of a kindred with pheochromocytoma medullary thyroid carcinoma, hyperparathyroidism and Cushing's disease: Multiple endocrine neoplasia, type 2. *Medicine (Baltimore)*, 47: 371-409, 1968.
187. STERNBERG SS. The parathyroid glands. En: *Diagnostic Surgical Pathology*. New York, Raven Press, pp. 416-433, 1989.
188. STEVENSON JC, LYNN JA. Time to end a conservative treatment for mild hyperparathyroidism. *Br Med J*, 296: 1016-1017, 1988.
189. SUTTON RN, HALL EL. Texture measures for automatic classification of pulmonary disease.

IEEE Trans Computers C-21: 667, 1972.

190. SWANK PR, GREENBERG SD, MONTALVO J, HUNTER NR, TROMPSON JL, WINKLER DG, SPJUT HJ, ESTRADA R, TAYLOR GR. Classification of bronchial epithelial atypias by the atypia status index.
Analyt Quant Cytol Histol, 5: 255, 1983.
191. TIBBLIN S, BONDESON AG, LJUNGBERG O. Unilateral parathyroidectomy in hyperparathyroidism due to single adenoma.
Ann Surg, 195: 245-252, 1982.
192. VAN HEERDEN JA, WEILAND L.H, REMINE W.H, WALLS J.T, PURNELL DC. Cancer of the parathyroid glands.
Arch Surg, 114: 475-480, 1979.
193. VAN HEERDEN JA, GHARIB H, JACKSON IT. Pseudohyperpara-thyroidism secondary to gigantic mammary hypertrophy.
Arch Surg, 123: 80-82, 1988.

-
194. VERBANCK J, CLARYSSE J, LONCKE R, SEGAERT M, VAN AELST F, THEUNYNCK P. Parathyroid aspiration biopsy under ultrasonographie guidance.
Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 112: 1069-1073, 1986.
195. VILLABONA C, GOMEZ JM, MARIGO M, TAMBIRINI H, CREUS A, RICART W. Aldosteronismo primario normotensivo asociado a hiperparatiroidismo primario.
An Med Inter, 2: 67-70, 1985.
196. VINDELOV LL. Flow microfluorometric analysis of nuclear DNA in cells from solid tumors and cell suspensions.
Virchows Arch (B), 24: 227-242, 1977.
197. WADE JHS, WILLIAMS ED. Surgical Pathology of the parathyroid glands. En: Hadfield GJ, Hobsley M y Morson DB (eds). Pathology in Surgical Practice, Londres, Edward Arnold, pp. 173-175, 1985.

-
198. WANG CA. The anatomic basis of parathyroid surgery.
Ann Surg, 183: 271-275, 1976.
199. WANG CA, RIEDER SV. A density test for the intraoperative differentiation of parathyroid hyperlasia from neoplasia.
Ann Surg, 187: 63-67, 1978.
200. WEILAND LH, GARRISON RC, REMINE WH, SCHOLZ DA.
Lipoademona of the parathyroid gland.
Am J Surg Pathol, 2: 3-7, 1978.
201. WELLS SA Jr, LEIGHT GS, HENSLEY M, DILLEY WG.
Hyperparathyroid associated with the enlargement of two or three parathyroid glands.
Ann Surg, 202: 533-538, 1985.
202. WERMER P. Genetic aspects of adenomatosis of endocrine glands.
Am J Med, 31: 103-166, 1954.

-
207. WILDER RM. Hyperparathyroidism: Tumor of the parathyroid glands associated with osteitis fibrosa. *Endocrinology*, 13: 231-244, 1929.
208. WINKLER B, GOODING GAW, MONTGOMERY CK, CLARK OH, ARNAUD C. Immunoperoxidase confirmation of parathyroid origin of ultrasound-guided fine needle aspirates of the parathyroid glands. *Acta Cytol*, 31. 40-44, 1987.
209. WOODS JW. Two-dimensional discrete Markovian fields. *IEEE Trans Information Theory IT-18*: 232, 1972.
210. YOUNES M, SUSSMAN J, TRUE LD. The usefulness of the muscularis mucosae in the staging of invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer*, 66: 543-548, 1990.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Reunido el Tribunal de Examen de los Trabajos de Graduación el día de la fecha, y con el siguiente Teste Doctoral:

HUGO GALERA RUIZ

PATRONES DE PLOIDIA Y DE TEXTURA NUCLEAR EN EL DIAGNOSTICO DEL HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO

se acordó otorgarle la categoría de APTO CUM LAUDE POR UNANIMIDAD

Córdoba, 26 de

MAYO

19 95

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

El Secretario,

El Doctorado,

V.º B.º: El Presidente.