



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

CITOLOGIA E HISTOLOGIA NORMAL Y PATOLOGICA

VARIABILIDAD DE LA SECRECION HORMONAL
DEL FEOCROMOCITOMA. ESTUDIO
INMUNOHISTOQUIMICO.

AUTOR: Ángel Manuel Mateos Vázquez

DIRECTORES: Hugo Galera Davidson

Ana María Moreno Fernández

Rafael Fernández Álvarez

15 de Octubre de 1996

R.24357

S TO

M/215

1161884



FACULTAD DE MEDICINA
D.T.O. DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA
NORMAL Y PATOLOGICA
Telf. 95/455.17.96/7/8
Fax: 95/455.17.99
41009 SEVILLA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

TD
N/A

al ... 59 ... 46 del libro
Sevilla: El Jefe del Negociado de Tesla

[Handwritten signature]



DON HUGO GALERA DAVIDSON, CATEDRATICO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA GENERAL Y ANATOMIA PATOLOGICA, DOÑA ANA MARIA MORENO FERNANDEZ, PROFESORA TITULAR, AMBOS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA Y DON RAFAEL FERNANDEZ ALVAREZ COMO ADJUNTO DEL HOSPITAL VIRGEN MACARENA,

CERTIFICAN: Que bajo su dirección y en el Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica, ha sido realizado el trabajo titulado: "VARIABILIDAD DE LA SECRECIÓN HORMONAL DEL FEOCROMOCITOMA. ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO", por Don ANGEL MANUEL MATEOS VAZQUEZ, para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Y para que así conste, expiden la presente certificado en Sevilla, a dieciseis de Julio de mil novecientos noventa y seis.

[Large handwritten signature]



R. Fernández



FACULTAD DE MEDICINA
D.T.O. DE CITOLOGIA E HISTOLOGIA
NORMAL Y PATOLOGICA
41009 SEVILLA

[Handwritten signature]

P.O.
[Handwritten signature]

Angel Manuel Mateos Vazquez

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor D. Hugo Galera Davidson, Catedrático de Histología y Embriología y Anatomía Patológica por su dirección y gran empuje.

A la Profesora Ana María Moreno Fernández por su gran interés y apoyo prestado durante todo este tiempo.

Al Doctor Rafael Fernández Álvarez, por sus facilidades y apoyo incondicional junto a su interés desde mi época de estudiante.

Al Profesor D. Juan Fernández y a la Profesora Inés Martín-Lacave por su importante contribución y atenciones.

Al Doctor Juan José Ríos por su apoyo y valiosa contribución.

A Loli Jiménez por su trabajo cuidadoso en la realización de los cortes del material en parafina.

A mis compañeros en esta etapa de doctorado que han sido de gran ayuda ante las dificultades planteadas a lo largo de la tesis.

A todos los miembros del Departamento de Citología e Histología Normal y Patológica por su colaboración y por el agradable ambiente de trabajo que he compartido.

A mi familia

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
A. HISTOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS	
SUPRARRENALES.....	1
1. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS.....	1.
2. DESARROLLO EMBRIOLÓGICO.....	2.
3. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA.....	4
3.1. Corteza suprarrenal.....	5.
3.2. Médula suprarrenal.....	9
4. VASCULARIZACIÓN E INERVACIÓN ADRENAL.....	13
5. RENOVACIÓN Y REGENERACIÓN CELULAR DE LA CORTEZA.....	15
6. SUPRARRENALES ECTÓPICAS.....	16
B. PARAGANGLIOS Y TEJIDOS CROMAFINES EXTRAADRENALES... ..	16
1. ESTRUCTURA MORFOLÓGICA DEL PARAGANGLIO.....	17
2. PARAGANGLIOMAS.....	19
2.1. Paraganglioma gangliocítico duodenal.....	20
2.2. Paraganglioma de la cauda equina.....	21
C. LESIONES PROLIFERATIVAS DE LA MÉDULA ADRENAL.....	21
1. CLASIFICACIÓN.....	21
1.1. Hiperplasia medular adrenal.....	22
1.2. Neuroblastoma y ganglioneuroma.....	22
1.3. Pseudofeocromocitoma.....	23

1.4. Feocromocitoma	23
Terminología	24
Características nosológicas y aspectos históricos	24
Feocromocitomas compuestos	25
Feocromocitomas recurrentes	26
Feocromocitomas en la infancia	27
Feocromocitomas familiares	28
D. CRITERIOS DE MALIGNIDAD DEL FEOCROMOCITOMA	33
1. ASPECTOS CLÍNICOS	33
2. ASPECTOS BIOQUÍMICOS	35
3. PATOGENIA	36
4. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA	39
5. ANÁLISIS CITOMÉTRICO DEL ADN	42
6. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO	42
Cromogranina	46
Enolasa específica neuronal	48
Sinaptofisina	49
Somatostatina	50
ACTH	51
Polipéptido intestinal vasoactivo	51
Calcitonina	52
Renina	53
HMB-45	55

Otros.....	56
7. GENÉTICA TUMORAL.....	58
E. HALLAZGOS MORFOLÓGICOS ASOCIADOS.	
E.1. Asociaciones poliendocrinas: familiares y no familiares.....	60
E.2. Anormalidades asociadas al feocromocitoma.....	62
E.3. Relación entre adenomas corticales y feocromocitomas.....	64
...	
F. OTROS ASPECTOS.	
F.1. Diagnóstico diferencial.....	66
F.2. Tratamiento del feocromocitoma.....	66
G. CRITERIOS DE VALOR PRONÓSTICO DEL FEOCROMOCITOMA.....	66
II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA.....	72
III. MATERIAL Y MÉTODO.....	75
A. MATERIAL.....	75
1. Aspectos clínicos.....	75
2. Variables anatomopatológicas.....	76

2.1. Estudio morfológico convencional.	77
2.2. Estudio inmunohistoquímico.	78
B. MÉTODO.	80
1. ESTUDIO ÓPTICO.	80
2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.	81
IV. RESULTADOS.	84
A. FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS ADRENALES.	84.
1) Valoración clínica de los tumores.	84
2) Estudio morfológico.	89
3) Valoración inmunohistoquímica.	92
..	
B. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES. SÍNDROME DE MEN.	94
1) Valoración clínica.	94
2) Estudio morfológico.	96
3) Valoración inmunohistoquímica.	98
C. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES NO MEN.	100
1) Valoración clínica.	100
2) Estudio morfológico.	102
3) Análisis inmunohistoquímico.	104

V. DISCUSIÓN.....	123
A. FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS.....	123
A.1. Variables clínicas.....	123
A.2. Variables anatomopatológicas.....	126
A.3. Características inmunohistoquímicas.....	127
B. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES ASOCIADOS A MEN.....	133
B.1. Variables clínicas.....	134
B.2. Variables anatomopatológicas.....	134
B.3. Características inmunohistoquímicas.....	134
C. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES NO MEN.....	137
C.1. Variables clínicas.....	137
C.2. Variables anatomopatológicas.....	138
C.3. Características Inmunohistoquímica.....	139
VI. CONCLUSIONES.....	147
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	150

I.INTRODUCCIÓN

A. ESTRUCTURA DE LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES.

Las glándulas suprarrenales, también denominadas adrenales, son masas pareadas, aplanadas y amarillas que, como su nombre indica, están en contacto con el polo superior de los riñones. La glándula derecha, que a veces se describe como si tuviera la forma de un sombrero de tres picos, está dispuesta de manera de cuña entre la superficie superior del riñón derecho y la vena cava inferior; la glándula izquierda más o menos semilunar, ocupa el borde interno del riñón izquierdo desde la parte superior hasta el hilio. Cada glándula contiene aproximadamente 5 cm. de largo, 3 a 4 cm. de ancho y algo menos de 1 cm de grueso.

Las glándulas suprarrenales comprenden dos órganos endocrinos distintos, que difieren en su origen embriológico, en su tipo de secreción y en su función: el tejido interrenal y el tejido cromafin. En los mamíferos están dispuestos como corteza y médula, respectivamente, pero en otras clases de vertebrados pueden estar entremezclados o pueden estar completamente separados.

1. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS.

Se distinguen pues dos zonas desde el punto de visto macroscópico:

- Zona periférica, dura y amarillenta, de algo más de medio centímetro de grosor, envuelta por una cápsula conectiva, relativamente gruesa: la corteza suprarrenal.
- Zona central, blanda y delgada, de color gris, que se altera rápidamente después de la muerte, presentando, por ello, con frecuencia el aspecto pardo-negruzco: la médula suprarrenal.

La corteza y la médula son embriológica, morfológica y funcionalmente diferentes constituyen dos órganos endocrinos distintos, tal como se comprueba durante el desarrollo

filogénico.

En los organismos menos evolucionados como los peces, los cuerpos interrenales son independientes de los cuerpos cromafines; en los anfibios, los dos componentes, están uno al lado del otro; en los reptiles, ambas formaciones comienzan a diferenciarse; acentuándose este acercamiento en las aves y en los mamíferos, donde se observa un envolvimiento completo de la médula por parte de la corteza, lo que demuestra que en el proceso de evolución de las especies, los dos componentes de las glándulas suprarrenales tienden a adquirir esta disposición, siendo en el hombre donde alcanza su máxima expresión.

2. DESARROLLO EMBRIOLÓGICO.

En cuanto a su desarrollo embriológico, la suprarrenales comienzan a formarse alrededor de la 5ª semana de vida embrionaria; a partir de 2 formaciones celulares de orígenes muy diferentes, que van a constituir la Corteza y la Médula.

En los embriones de 8-10 mm., la corteza suprarrenal se origina a partir de un conjunto de células mesoblásticas de la pared de la cavidad celómica, situada entre el esbozo genital y la raíz del mesenterio (44). Estas células a medida que van proliferando se dirigen hacia atrás y se van incorporando al mesénquima vecino; de este forma se constituye la llamada corteza provisional o fetal, gruesa, compuesta por grandes células acidófilas de núcleos voluminosos, dispuestas en cordones, separados por abundantes vasos sanguíneos.

Poco después, en los embriones de 14 mm., otra emigración de las células, de menor tamaño, procedentes del mismo lugar, van a rodear esta corteza acidófila, constituyendo la corteza definitiva, también denominada, permanente, menos gruesa y formada por pequeñas

células basófilas, de núcleo pequeño e hipercromático.

Entre las semanas 6ª y 7ª del desarrollo, otra emigración celular, procedente de la cresta neural, forma los ganglios celiacos. Sin embargo, algunas de ellas emigran hacia el tejido cortical hasta quedar, completamente, englobadas por éste, constituyendo la médula adrenal. En este momento, queda formada la glándula suprarrenal, que en el embrión, feto y recién nacido son proporcionalmente mayores de tamaño y peso que en el adulto (44).

Hacia la 8ª semana de gestación, las suprarrenales tienen un peso aproximado de 4-6 mgrs., desarrollándose, posteriormente, a una alta velocidad, de tal modo, que en el 2º trimestre, el tamaño relativo de la suprarrenal fetal es 35 veces superior al del adulto. En el tercer trimestre, el crecimiento es más lento y, en el momento del nacimiento, acompañando a la involución de la corteza fetal, cada suprarrenal alcanza un peso aproximado de 4 grs., reduciéndose en un 50% durante las primeras semanas de vida postnatal. El tamaño que logra, la glándula adrenal, en el período fetal, se debe al gran desarrollo que alcanza la corteza provisional. En esta etapa, las células de la corteza permanente se desarrollan muy lentamente, y sólo después del nacimiento, cuando involuciona la corteza fetal, comienza a diferenciarse las 3 zonas características de la corteza adulta, no estando completamente diferenciada hasta los 18 ó 24 meses después del nacimiento (44). El hecho de que la corteza provisional esté muy desarrollada en la vida fetal e involucione después del nacimiento, sugiere, que al igual que la placenta, tienen una función especial en la vida fetal. De hecho, se ha comprobado durante este período una producción activa de hormonas sexuales e hidrocortisona, en pequeñas cantidades, bajo control hipofisario.

El desarrollo embriológico permite comprender las distintas relaciones existentes entre

tumores cromafines así como otras neoplasias endocrinas. Se ha propuesto una hipótesis que defiende que el neuroblastoma y el feocromocitoma representan diferentes estadios de diferenciación desde la cresta neural. El neuroblastoma estaría menos diferenciado mientras que el feocromocitoma lo estaría más (66). Este hecho es importante para comprender la asociación entre el feocromocitoma y el carcinoma medular de tiroides en los síndromes MEN tipo 2a y 2b. También desde una perspectiva embriológica se sabe que la distribución de las células paraganglionares es considerablemente más extensa en el recién nacido que en el adulto (47). Esta hipótesis podría explicar la aparición de frecuentes paragangliomas en niños; así como, la presencia de paragangliomatosis con más de 20 tumores en un mismo paciente (75).

Por otro lado, el origen embriológico común de la médula adrenal y del sistema nervioso simpático explica el hallazgo de feocromocitomas compuestos, donde el tumor contiene tanto ganglioneuromas como ganglioneuroblastoma y neuroblastoma (88).

3. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA.

La inspección de un corte de la glándula suprarrenal con objetivo de poco aumento descubre algunos datos destacados. En primer lugar, la glándula posee una cápsula relativamente gruesa de tejido conectivo. En segundo lugar, existen venas de grueso calibre que son las venas de la médula y una cantidad moderada de tejido conectivo en relación con ellas. Entre este tejido conectivo y el de la cápsula está el parénquima; la mayor parte consiste en corteza, formada por células epiteliales secretoras dispuestas en capilares de grueso calibre. El citoplasma de las células de la médula es más basófilo que el de las corticales; en consecuencia,

la médula puede identificarse como una zona basófila situada entre dos capas pálidas de corteza. Con el estudio más minucioso se observará que las células parenquimatosas de la corteza y de la médula siguen el patrón general apreciado en las glándulas endocrinas; dispuestas en cordones y acúmulos más o menos redondeados separados por numerosos capilares. En la médula entre los nidos y cordones de células hay capilares de escaso calibre y conductos venosos más anchos que drenan en las venas más grandes antes mencionadas.

3.1. Corteza suprarrenal.

Las células parenquimatosas de la corteza entre la cápsula y la médula muestran tres clases de disposiciones, denominadas zonas. Inmediatamente debajo de la cápsula, en la zona glomerular, las células están agrupadas en acúmulos pequeños e irregulares, separados por capilares. Debajo de forma radial y perpendicular a la superficie se encuentra la capa fasciculada. Entre la zona fasciculada y la medular nos encontramos con la última capa llamada reticular la cual sigue diferentes direcciones.

La capa glomerulosa, fasciculada y reticular representan en el hombre respectivamente el 15, 78 y 7%, aproximadamente, del total del volumen cortical. La transición de una zona a otra, en cortes histológicos es gradual, no obstante, aunque es poco frecuente, la zona glomerular puede faltar en algunas áreas de la corteza, y en tales lugares, la zona fasciculada se encuentra inmediatamente debajo de la cápsula.

De las tres zonas netas de la corteza suprarrenal, la externa o zona glomerular, forma alrededor del 10 a 15% de la corteza; consiste en grupos y acúmulos íntimamente empacados de células cúbicas o cilíndricas con núcleos que se tiñen de oscuro y citoplasma escaso observándose pocas gotas lipídicas citoplasmáticas. Con el microscopio electrónico, el dato más

destacado es la abundancia de una red anastomosada de retículo endoplásmico liso. La mitocondria es filamentosa presentando destacado complejo de Golgi y centriolos.(136)

Las células de la capa fasciculada son poliédricas con núcleos voluminosos vacuoladas y con gran cantidad de gotas de lípidos. Para esta denominación les encaja el nombre de espongocitos. Estas gotas de lípidos no son más que colesterol útil precursor de las hormonas esteroideas acompañado de una importante cantidad de ácido ascórbico (vitamina C). Estas células se caracterizan por su ultraestructura de mitocondrias con crestas tubulares, retículo endoplásmico liso y también rugoso.

La transición desde la zona fasciculada es gradual, aunque algunas veces, se describe entre ambas capas, una zona intermedia formada por células con escasas gotas lipídicas y características sudanóforas, que aunque es infrecuente en el hombre, suele ser muy manifiesta en algunos animales.

Las células que componen la zona reticular, son más pequeñas de las de la zona fasciculada, y tienen, relativamente, pocas inclusiones lipídicas. El citoplasma es compacto y fácilmente coloreable. Asimismo, destacan por las grandes acumulaciones de pigmento lipofuscínico, que con el microscopio de luz se observan como gotitas de color marrón-amarillento intracitoplasmáticas. Este pigmento suelen estar presente en la zona reticular durante el período infantil; después desaparece, transitoriamente, para volver a aparecer de nuevo en el adulto a una edad, aproximada, de 30 años. También es característico de esta zona, la presencia, sobre todo en el espacio cercano a la médula, de 2 tipos celulares, denominados células "claras" y "oscuras". Las células claras presentan un núcleo poco teñido y un citoplasma pálido; mientras que las oscuras representan un estado degenerativo característico; no obstante, no se conoce con

exactitud su significado funcional.

Al estudiarlas con el M.E., las células de la corteza presentan una serie de características comunes a todas las células productoras de esteroides:

1º) Abundante REL, que ocupa de un 40-45% del volumen celular, en las células más activas de la capa fasciculada y, en menor proporción en la capa glomerular y reticular, formando una red anastomosada de túbulos que se extienden por todo el citoplasma.

2º) Numerosas mitocondrias que ocupan del 26-36% del volumen celular, dependiendo del estado funcional. Son de forma y tamaño variable, aunque generalmente, son alargadas u ovoides y de contorno circular, difieren de las de la mayor parte de las células porque las crestas tienden a ser tubulares y no planas; estas crestas se describen como tubos cortos con dilataciones vesiculares a lo largo de su trayecto.

3º) Otra de sus características es la presencia de un número variable de gránulos lipídicos rodeados por membranas, con un contenido homogéneo. El número de gránulos lipídicos depende de la función en la zona de la corteza estudiada, predominando en las células Claras ó Espongocitos, y encontrando un menor número de las células glomerulares y, aún menor, en las de la zona reticular.

Además de estas características comunes a las células productoras de hormonas esteroides, las células de la Corteza Suprarrenal se identifican, ultraestructuralmente, como unas células de contorno poligonal, con un núcleo redondeado y nucleolo muy prominente. Del mismo modo presentan acúmulos de heterocromatina distribuidos por la perifería nuclear.

La membrana plasmática es lisa, en la mayor parte del cuerpo celular, pero pueden tener unos pliegues o microvellosidades en la superficie que da al espacio perivascular y en los puntos

en contacto con otras células.

El complejo de Golgi está bien desarrollado, localizándose en posición yuxtannuclear. Así mismo, ocasionalmente, se encuentran conjuntos paralelos de cisternas de RER en la suprarrenal humana, pero raramente en otras especies, y muchos polirribosomas libres que a menudo se disponen en espirales y rosetas.

También se han identificados lisosomas, microperoxisomas y depósitos de pigmento lipocrómico, sobre todo, en la zona fasciculada interna y reticular.

Es característico observar en las 3 capas de la corteza adrenal, como las células forman agrupaciones rodeadas por una membrana basal entre las que se disponen numerosos capilares de tipo sinusoide, con un epitelio muy aplanado con numerosas fenestraciones, recubiertas por una membrana basal continua. Así como un espacio subendotelial, ocupado por macrófagos, fibroblastos y abundantes fibras reticulares.

Otra hormona producida por la corteza son los mineralocorticoides como la aldosterona de función mantener el equilibrio de agua e hidrosalino. El factor principal que regula la concentración de aldosterona es la angiotensina II dependiente del sistema renina-angiotensina del riñón. Las últimas hormonas corticales son las hormonas sexuales principalmente los andrógenos provenientes de las zonas fasciculadas y reticular, cuya regulación depende principalmente de la LH y FSH.

Se ha descubierto que las células de la zona glomerular se transforman por la acción de la ACTH en células de tipo fasciculado.(44)

3.2. La médula suprarrenal.

Microscópicamente, la médula suprarrenal está compuesta de células epiteloides grandes, dispuestas en grupos redondeado o en cordones cortos, sostenidos por numerosas fibras reticulares y en estrecha relación con capilares sanguíneos y fibras nerviosas. La disposición de las células es tal, que siempre se encuentran colocada entre un capilar y una vénula estando polarizadas en dirección de la última; de forma, que las fibras nerviosas preganglionares que la inervan contactan en el lado del capilar, mientras que la secreción se acumula en el polo celular orientado hacia las vénulas, donde es vertida.

Las células de la médula suprarrenal, presentan un gran polimorfismo, identificándose diversos tipos celulares:

- a) El primero está constituido por células globulosas de núcleo central y citoplasma claro; estas células tienden tendencia a formar grupos más o menos compactos y se denominan células ragiocromas, células "Claros" o productoras de noradrenalina.
- b) El segundo tipo celular, comprende células de mayor tamaño y un citoplasma con gran afinidad por los colorantes habituales, de ahí la denominación de células hialocromas, células "oscuras" o productoras de adrenalina. En algunas especies, estas células se localizan perfectamente alineadas, a lo largo de las venas; sin embargo, en el hombre, las células ragiocromas e hialocromas se hallan mezcladas, sin que se observe una distribución predominante.
- c) En tercer lugar, se describen numerosos tipos celulares con características intermedias entre las dos anteriores.
- d) Además de estas variedades citológicas, se identifican células ganglionares simpáticas que

aparecen aisladas o en pequeños grupos, dentro de la médula suprarrenal.

Respecto a las características histoquímicas según demostró Henlé en 1865, cuando el tejido se fija en una solución que contienen bicromato potásico, estas células aparecen llenas de gránulos pardos. Esta coloración de los gránulos citoplásmicos con sales de cromo se denominó reacción feocroma ó cromafin, y es el resultado de la oxidación y polimeración de las catecolaminas, noradrenalina y adrenalina, contenido dentro de los granos de la células ragiocromas o hialocromas, respectivamente.

Estas características de formar compuestos coloreados ó feocromos es compartida por un grupo de células epiteliales, del mismo origen embriológico que las de la médula adrenal, y que forman los paraganglios. Al conjunto de las células cromafines de la médula adrenal y de los paraganglios se denomina sistema cromafin.

Se ha utilizado otras variante de la reacción cromafin para demostrar, histoquímicamente, las célula medulares, como las de Hillarp y Hokfelt (1955), las cuales, empleando una mezcla de oxidantes de bicromato y cromato de potasio, las coloreaban de color marrón intenso.

Entre otras técnicas histoquímicas, más ó menos específicas, para poner de manifiesto las células productoras de catecolaminas, podemos nombrar la de Vulpian (1956), que utiliza el cloruro férrico para colorear estas de color azul verdoso ó las que emplean la plata amoniacal que las colorea de negro.

Sin embargo, el desarrollo de otras técnicas histoquímicas han demostrado que dentro del grupo de las células feocromas se distinguen dos tipos celulares diferentes:

1º- Las células que contienen Noradrenalina, corresponden a las células "Claros" ó Ragiocromas,

son autofluorescente, dan las reacciones argentafines y del yodato potásico, muestran una escasa afinidad por el azocarmín y, dan negativa la reacción de la fosfatasa ácida.

2º.- Las células secretoras de Adrenalina, corresponden a las células "Oscuras" ó Hialocromas, tienen una afinidad mayor para el azocarmín y son positivas a la acción de las fosfatasa ácida, pero ni son fluorescentes ni reaccionan con el yodato o la plata.

Además de las técnicas histoquímicas referidas, otros métodos combinados, utilizando la doble fijación con el GH y osmio, y el tratamiento con nicotina, que deplecciona, exclusivamente, la noradrenalina, permitieron verificar, morfológicamente, estos dos tipos celulares (44):

El primero, corresponde a las células ragiocromas, el menos numeroso, que se caracteriza por un denso citoplasma y un agrupamiento en nidos más o menos esféricos, si bien, pueden adoptar forma de semilunas en torno a la segunda variedad celular, más numerosa, con un citoplasma claro.

Si a estas células se las somete a los efectos de la nicotina, podremos evidenciar cambios significativos a nivel de las células densas, como se demuestra por una disminución en el número aparente de estas células y una vacuolización en su citoplasma.

Este dimorfismo celular ha sido interpretado, clásicamente, como un reflejo diferencial en la elaboración de noradrenalina por las células ragiocromas y de adrenalina por las células hialocromas. Sin embargo, la existencia constante y numerosa de células con características intermedias, la desaparición de este dimorfismo en el curso de diferentes condiciones experimentales y la capacidad de las células medulares de transformar la noradrenalina en adrenalina; plantean la hipótesis de que esta dualidad celular parecer representar, más bien, un

aspecto funcional diferencial de las células medulares, condicionada por factores ambientales y, sobre todo, por el efecto de las hormonas corticales, como veremos posteriormente.

La microscopia electrónica de las células cromafines de la médula suprarrenal demuestra la presencia de numerosos gránulos intracitoplasmáticos, densos y osmiófilos, envueltos por membrana de 100-300 nm. de diámetro. Cuando el tejido se fija en glutaraldeído, se distinguen dos poblaciones celulares, en razón del carácter de sus gránulos:

1ª) Las células que almacenan noradrenalina, tienen gránulos que poseen un núcleo muy denso a los electrones, y que, a menudo, ocupa una posición excéntrica adherido a algún punto a la superficie de la membrana limitante, conservando la forma esférica o bien adoptando disposición de semiluna.

2ª) Las células que almacenan adrenalina, tienen gránulos que son prácticamente homogéneos, menos densos a los electrones y que presentan una clara subestructura, pues contienen numerosas partículas de 50-100 Å de diámetro.

Estos gránulos secretorios son considerados el lugar de almacenamiento de las catecolaminas, sin embargo, los gránulos sólo contienen un 20% del peso de hormona. Por ello, hay que indicar que están integrados por una cantidad significativa de proteínas solubles que, en su mayor parte, es la cromogranina, como se ha demostrado inmunohistoquímicamente; así como, grandes concentraciones de lípidos, ATP, cationes divalentes y enzimas como la dopamina-beta-hidroxilasa.

En la médula adrenal humana, predomina el tipo celular productor de adrenalina, frente al de noradrenalina. Ambos tipos celulares se caracterizan, además de por sus gránulos, por presentar:

- Núcleo único y redondeado, con un nucleolo evidente.
- Numerosos ribosomas, dispersos por el citoplasma o adheridos al RE.
- Mitocondrias en forma redondeada o alargadas, que presentan las típicas membranas y crestas, siendo su matriz bastante densa.
- El Aparato de Golgi está constituido, predominantemente, por grandes y pequeñas vesículas y, se localiza en posición yuxtannuclear.
- El REL y el RER están poco desarrollados en estas células.
- Los lisosomas son relativamente abundantes en estas células y, en general, tienen disposición periférica.
- También se observan algunos gránulos lipídicos y cuerpos densos.
- La membrana que rodea la célula es fundamentalmente lisa, aunque en ocasiones, presentan digitaciones del espacio intercelular.

4. VASCULARIZACIÓN E INERVACIÓN ADRENAL.

Cada glándula suprarrenal es regada por tres arterias que tienen distinto origen y se ramifican al acercarse a las glándulas. Se reconocen 3 grupos principales:

Las arterias suprarrenales superiores, que se originan de la arteria frénica inferior y que parecen ser el grupo principal.

Las arterias suprarrenales medias, que provienen de la aorta.

Las arterias suprarrenales inferiores, que son ramas de la arteria renal.

Desde estas diferentes procedencias, las arterias forman un plexo en la cápsula, del cual, surgen las arterias corticales, que se distribuyen en una red anastomosada de sinusoides, rodeada por

los cordones celulares de la corteza hasta desembocar en el límite córtico-medular, en una red venosa colectora.

Algunas ramas arteriales, denominadas arterias perforantes o medulares, penetran desde la cápsula por las trabéculas conjuntivas y cruzan la corteza, sin emitir ramas, hasta que llegan a la médula. En la médula, se ramifican repetidamente y forman una red capilar abundante en torno a los grupos y cordones de células cromafines. De esta manera, la médula tiene un doble aporte sanguíneo; a través de los sinusoides corticales, que se anastomosan con su lecho capilar, después de pasar el límite cortico-medular, y que es rica en hormonas esteroideas, y a través de las arterias perforantes o medulares, que pasan directamente de la cápsula a la médula.

Este tipo de vascularización tiene consecuencias fisiológicas importantes, hay pruebas experimentales de que una alta concentración de glucocorticoides es necesaria para inducir y mantener la enzima que, a su vez, es imprescindible para la síntesis de adrenalina. De este modo, el que una célula medular segregue noradrenalina ó adrenalina queda determinado por el lugar en que está situada con respecto a la sangre rica en esteroides de la corteza (44).

Los capilares de la médula se vacían en el mismo sistema venoso que drena la corteza. Las numerosas vénulas van a reunirse y forman las grandes venas centrales de la médula, que salen de las glándulas, a través del hilio, reunidas en la vena suprarrenal (47).

En cuanto a los vasos linfáticos, se han descrito únicamente donde la glándula contiene abundante tejido conjuntivo, es decir, en la cápsula y en sus trabéculas, así como, en el tejido conectivo que rodea a las grandes venas.

La inervación de la glándula está compuesta por fibras simpáticas preganglionares que llegan a la glándula por vía de los nervios esplácnicos mayor y menor. Estas fibras forman un

un rico plexo en la cápsula, desde el cual parten, atravesando la corteza y terminando en la médula mediante sinapsis típicas en torno a las células cromafines (137).

Como se ha indicado al referirnos a los sistemas de regulación de la médula adrenal, la estimulación nerviosa, a través de los nervios esplácnicos, es fundamental en la respuesta funcional de la médula; no sólo activando la elaboración rápida de la adrenalina, sino estimulando en los primeros pasos la biosíntesis de esta hormona.

5. RENOVACIÓN CELULAR Y REGENERACIÓN DE LA CORTEZA SUPRARRENAL.

Durante mucho tiempo ha habido opiniones contrarias acerca del modo de crecer y repararse la corteza suprarrenal. En un principio se creía que las células se originaban, o bien de elementos de aspecto fibroblásticos de la cápsula o por división de las células de la zona glomerulosa, que gradualmente, se movían a lo largo de la fasciculada, y degeneraban en la zona reticular. Las células oscuras de esta zona se consideraban como células que estaban sufriendo cambios degenerativos. No obstante, casi todos los datos parecen favorecer la opinión actual, de que una vez formadas, las células de la glomerulosa y de la fasciculada, no se mueven apreciablemente, y que la renovación celular resulta de una actividad local. Como se ha comprobado, experimentalmente, ya que después de inyectar colchicina, para detener la división celular en la metafase, las figuras de mitosis no quedan limitados a ninguna región, sino que se distribuyen por toda la corteza (88).

6. SUPRARRENALES ECTÓPICAS.

Es interesante nombrar las "suprarrenales ectópicas" como tejido suprarrenal accesorio retroperitoneal; pueden encontrarse en cualquier localización desde el diafragma hasta la pelvis. Es sorprendente ver que algunas de estas suprarrenales aberrantes poseen corteza y médula. También se advierten restos de tejido suprarrenal en regiones subcapsulares de riñón, testículo y corteza ovárica. (137).

B.PARAGANGLIOS Y TEJIDOS CROMAFINES EXTRAADRENALES.

El paraganglio comparte un origen embriológico común con las médula adrenal ya que deriva de la cresta neural, como se ha reseñado anteriormente.

Se les llama paraganglios por su relación con los ganglios celíacos y se disponen en cúmulos y cordones muy vascularizados.

Anatómicamente se localizan en los ganglios simpáticos paravertebrales, riñón, hígado, testículo, ovario, corazón (166) y de forma dispersa en todo el retroperitoneo. Del mismo modo, pueden verse asociados con ciertos nervios craneales y algunas de las estructuras por ellos inervadas, como: cuerpo carotídeo, cuerpo aórtico, glomus yugular o timpánico, grupos celulares de ganglios del vago y ganglio ciliar. Una de las mejores revisiones anatómicas de los paraganglios extra-adrenales fue realizada hace dos décadas por Glenner y Grimley (47) el cual los dividió en tres grupos:

1. Braquimérico e intravagal. Son los mejor conocido e incluyen los localizados en el cuerpo carotídeo y glomus yugulotimpánico. Los del cuerpo carotídeo han sido especialmente estudiados por Smith, Heath y cols.(64).

2. Aórtico simpático.

3. Paraganglio visceral.

1. ESTRUCTURA MORFOLÓGICA DEL PARAGANGLIO.

Con la excepción de la médula adrenal, el órgano de Zuckerkandl y los cuerpos carotídeos, los paraganglios son en general menores de 1 mm en su eje mayor y de forma redondeada, ovoides o irregulares. Los cuerpos carotídeos son los de mayor tamaño dentro de los paraganglios extraadrenales.

Contienen dos tipos principales de células: las células endocrinas y las células gliales parecidas a las de Schwann. Las primeras han sido denominadas "células paragangliónicas", "células con contenido de gránulos" o cromafines cuando se asocian con el sistema nervioso simpático; y células glómicas, "células de tipo I" o "células clave" cuando se asocian al sistema nervioso parasimpático. Las segundas también han sido denominadas "células sustentaculares", "células satélites", "células de soporte" o "células tipo II". Las células endocrinas se disponen formando grupos o cordones (denominados "Zelballen" y "Zeltragen" por Alfred Köhn en 1898), presentando abundante citoplasma y núcleo pequeño, esférico u ovoide y pálido pudiendo ser identificadas con técnicas de plata los gránulos secretorios argirófilos. Ultraestructuralmente presentan gránulos rodeados de membrana o vesículas densas, de 60 a 400 nm de diámetro, y con una densidad electrónica comparable a los gránulos tipo norepinefrina de la médula adrenal. Tanto los paraganglios simpáticos como parasimpáticos contienen una rica red vascular existiendo una asociación íntima entre las células neuroendocrinas y los capilares. Esta asociación íntima sugiere que los paraganglios simpáticos funcionan como glándulas endocrinas

utilizando sus productos secretorios para uso local.

Desde el punto de vista de la fisiología se puede decir que el prototipo de paraganglio simpático es la médula adrenal y del parasimpático es el cuerpo carotídeo. El papel fundamental de los mismos es liberar productos de secreción en respuesta a estímulos neurales y/o químicos y que a su vez pueden tener efectos endocrinos, paracrinos, de neurotransmisión o neuromodulación, según el contexto anatómico. En la médula adrenal de los adultos las situaciones de estrés incrementan la descarga de terminales espláncnicas, las cuales sinaptan sobre la células cromafines, descargando la liberación de gránulos secretorio por exocitosis. Del mismo modo, es interesante decir que la función quimiorreceptora del cuerpo carotídeo fue descrita por Castro en 1926. Al mismo tiempo (Heymans y Heymans) (70) descubrieron que la baja concentración de oxígeno y la alta concentración de CO₂ estimulaban el centro respiratorio gracias a la acción intermedia de los paraganglios aórticos.

2.1. Paragangliomas.

Según la visión de Karsner (81) se reserva este término a todas las lesiones tumorales extraadrenales de naturaleza cromafín. Por ello, son neoplasias de los paraganglios simpáticos extraadrenales, que se caracterizan por exhibir una reacción cromafín positiva o por la evidencia clínica de secreción de catecolaminas. Las neoplasias de los paraganglios parasimpáticos han sido denominados "quemodectomas", "paragangliomas no cromafines" o "glomus tumorales".

Describiendo algunas consideraciones patológicas hay que decir que los cambios significativos observados en el paraganglio son la hiperplasia y la neoplasia, existiendo marcadas diferencias entre lesiones simpáticas y parasimpáticas:

- a) Las lesiones productoras de cantidades significativas de epinefrina, o asociadas con síntomas clínicos debidos al exceso de secreción de catecolaminas, son invariablemente simpáticas.
- b) Las lesiones asociadas con una prolongada hipoxia o hipercapnia son casi exclusivamente parasimpáticas.
- c) Las células de los paraganglios simpáticos originan neoplasias de células neurales mientras que las células de los paraganglios parasimpáticos ocasionan neoplasias neuroendocrinas.

Respecto a la distribución y frecuencia de los paragangliomas se han descrito virtualmente en todas las localizaciones. Son tumores raros que afectan a 1/100.000 de la población entre la cuarta y la quinta década de la vida. Los paragangliomas de cabeza y cuello, son predominantemente parasimpáticos y comprenden el 0.01% de estos tumores. El 50% de las neoplasias extraadrenales se localizan en la vecindad de los órganos de Zuckerkandl. De los paragangliomas parasimpáticos, los tumores yugulotimpánicos son los más frecuentes (57-81%) seguidos por los del cuerpo carotídeo (8-36%), los vagales (4-13%) y los aórticos (4-10%). Las lesiones de otra localización son extremadamente raras siendo los paragangliomas parasimpáticos más frecuentes en mujeres.

Los paragangliomas funcionantes suelen estar asociados con signos y síntomas dependientes de la liberación de catecolaminas, predominantemente norepinefrina. No obstante, hay un mayor contenido de adrenalina en los paragangliomas simpáticos torácicos y en los parasimpáticos.

Además de las catecolaminas los paragangliomas simpáticos extraadrenales pueden segregar encefalina, somatostatina, ACTH, gastrina, calcitonina, glucagón y VIP; mientras que los parasimpáticos pueden segregar encefalina, somatostatina, calcitonina, VIP, vasopresina y

bombesina.

2.1.1. Paraganglioma gangliocítico duodenal.

Este tumor es una entidad rara de dudosa naturaleza (58) ya que es un híbrido entre el feocromocitoma y el paraganglioma (47). Sin embargo, es más gangliocítico que paraganglioma según los factores neuroendocrinos estudiados. Se ha postulado que asienta sobre las células del paraganglio vagal de la pared duodenal descrito por Penone y generalmente se origina en la segunda porción, dándose con más frecuencia en varones de mediana edad que en mujeres. Las células tumorales no son reactivas para la cromogranina.(58).

2.1.2. Paraganglioma de la cauda equina.

Es un paraganglioma compuesto localizado en el filum terminale de la cauda equina (71). Es muy poco frecuente ya que sólo se han descrito 60 casos. Este tumor presenta características inmunocitoquímicas comunes con el paraganglioma gangliocítico duodenal, como es la inmunorreactividad para la enolasa neural específica y para la proteína S-100.

Resulta de interés considerar el síndrome de Carney que incluye la triada: de leiomioma epiteloide gástrico, condroma pulmonar y paraganglioma funcional (22) (23). Se conoce la existencia de rasgos hereditarios pero no se ha establecido los patrones de herencia mendeliana (48). Se han descrito preferentemente en mujeres jóvenes.

C. LESIONES PROLIFERATIVAS DE LA MÉDULA ADRENAL.

I. Clasificación.

Son lesiones de la médula adrenal:

La hiperplasia medular adrenal.

El neuroblastoma.

El ganglioneuroma.

El pseudofeocromocitoma.

El feocromocitoma.

1.a) La hiperplasia medular adrenal.

La hiperplasia de la médula suprarrenal ha sido reconocido recientemente como una entidad diferente que puede manifestarse con síntomas similares a los del feocromocitoma. Puede ser nodular o difusa y siempre es bilateral. Los casos con hiperplasia manifiesta son fáciles de reconocer, pero en las fases más tempranas pueden ser necesarios estudios morfométricos para detectar incrementos mínimos en el volumen medular o en el peso. En la mayoría de los casos, la hiperplasia medular es un componente de la adenomatosis endocrina múltiple Tipo II, junto con el carcinoma medular de tiroides y la hiperplasia de células principales de paratiroides. Puede convertirse en el sustrato a partir del cual se desarrollarían en estos pacientes feocromocitomas benignos y malignos (a veces múltiples y bilaterales) descritos por Ackerman.

2. Neuroblastoma y ganglioneuroma.

El neuroblastoma es uno de los tumores más frecuentes en la infancia, siendo el porcentaje que se descubre antes de los cinco años de edad del 80%; el 35% se presenta antes de los dos años de edad y menos frecuentemente después de los 15. Cuando aparecen después del primer año se comporta de manera muy agresiva, sin embargo, cuando se manifiesta al nacer o en los primeros meses de vida hay una tendencia notable a la regresión espontánea.

Los neuroblastomas se presentan en diversas localizaciones tanto en la médula como en el retroperitoneo. Histológicamente las células tumorales (neuroblastos) se disponen formando rosetas alrededor de fibrillas nerviosas inmaduras. Por otro lado, las metástasis se desarrollan ampliamente y con rapidez siendo muy características las óseas, particularmente en cráneo y órbita, en los tumores originados en la suprarrenal izquierda, (diseminación de tipo Hutchinson); y las hepáticas en los tumores originados en la suprarrenal derecha (diseminación tipo Pepper). El 90% de los neuroblastomas elaboran principalmente noradrenalina.

La mayor parte de los neuroblastomas se diferencian en grado variable pudiendo transformarse de manera completa en un ganglioneuroma. Este tumor está constituido por un fondo de estroma fibroso en el cual hay esparcidas células ganglionares. Además pueden advertirse todos los cuadros intermedios de diferenciación entre el neuroblastoma puro y el ganglioneuroma puro, lo que recibe el nombre de ganglioneuroblastoma (137).

3. Pseudofeocromocitoma.

La definición de pseudofeocromocitoma expresa la situación clínica de un paciente que

manifiesta signos y síntomas de feocromocitoma pero la exploración quirúrgica revela que no existe tumor. En la lista de entidades causantes de pseudofeocromocitoma se encuentran: el mielolipoma adrenal (26), quistes renales (177), coartación abdominal de aorta (48), fibrosarcoma de la arteria pulmonar (182), astrocitoma (36), la hiperplasia medular adrenal y el paraganglioma cardiaco o funcional. La intoxicación aguda por mercurio (acrodinia) (68), al igual que la administración farmacológica de epinefrina (17) y la sobreactividad de los receptores adrenérgicos (15) son causas potenciales demostradas.

4. FEOCROMOCITOMA.

Terminología.

Son sinónimos y términos relacionados con el feocromocitoma: paraganglioma intradrenal; tumor de células cromafines; cromafinoma; tumor cromáfilo; estroma adrenal cístico de las adrenales; adenoma medular de las adrenales; tumor adrenérgico y feocromoblastoma.

Características nosológicas y aspectos históricos.

El primer tumor observado clínicamente corresponde a la descripción de Félix Fränkel (1886) en una paciente de 18 años que sufrió crisis paroxísticas de palpitaciones, ansiedad, vértigo, cafaea, vómitos y alteraciones de temperatura y pulso. La paciente murió al décimo día de iniciarse el cuadro clínico y en la autopsia se describió un tumor adrenal bilateral (42). Sin embargo, el término feocromocitoma fue primariamente introducido por Pick en 1912 para definir un tumor medular adrenal que se oscurece por la fijación con dicromato potásico y que

produce una importante cantidad de catecolaminas.

El feocromocitoma es un tumor derivado de las células cromafines que se localiza en las glándulas adrenales, aunque también puede desarrollarse en tejidos extra-adrenales. Representa una causa rara de hipertensión arterial, encontrándose en menos de un 0,1% de los pacientes hipertensos (41), con una incidencia aproximadamente de 1-2 casos por cada 100.000 adultos y año (10). Más del 90% son citológicamente benignos (91), aunque su comportamiento clínico puede ser agresivo. Así la omisión de su diagnóstico o los errores en el tratamiento puede ser mortales. La edad de presentación de esta neoplasia es muy amplia desde la niñez hasta la vejez, pero suelen diagnosticarse entre el cuarto y el quinto decenios de la vida.

Aproximadamente el 90% de los casos se localiza en las glándulas suprarrenales, donde se localiza la mayor parte del tejido cromafín. Puede también desarrollarse a partir de cualquiera de los lugares donde se encuentre tejido cromafín extraadrenal, como a lo largo de las cadenas simpáticas abdominales o en el órgano de Zuckerkandl. Además un 1% se presenta en la pared de la vejiga, y menos del 1% es de localización intratorácica, en relación con las cadenas simpáticas paravertebrales (143).

Los feocromocitomas habitualmente son esporádicos, pero pueden formar parte de distintas enfermedades de tipo familiar, principalmente de los síndromes de adenomatosis endocrina múltiples tipo IIa (hiperparatiroidismo primario, cáncer medular de tiroides y feocromocitoma) y IIB (carcinoma medular de tioides, feocromocitoma, neuromas mucosos y hábito marfanoide), de la enfermedad de Von-Hippel-Lindau (angiomatosis retiniana, hemangioblastomas cerebelosos, carcinoma de células renales, quistes testiculares y feocromocitoma) y de la neurofibromatosis (manchas café con leche, neurofibromas cutáneos,

neurinomas bilaterales del nervio acústico y feocromocitoma) (18), (80).

4.1. FEOCROMOCITOMAS COMPUESTOS.

Los feocromocitomas compuestos se refieren a aquellos tumores en los que hay un componente de neuroblastoma, ganglioneuroblastoma o ganglioneuroma (165) (30) ya que comprenden neoplasias con un ancestro embriológico común procedente de la cresta neural. (121). Estos tumores pueden desarrollarse como resultado de la transformación de feocromocitomas maduros o bien a partir de células cromafines no neoplásicas. Esta interpretación se basa en estudios in vitro que han demostrado que tanto las células medulares normales como las neoplásicas son capaces de seguir la diferenciación gangliónica bajo la influencia de ciertos factores de crecimiento, por ej. el factor de crecimiento nervioso descrito por Tischler (165) (167). Se localizan preferentemente a nivel de las suprarrenales (96), (65), (71) (36) siendo poco frecuentes en localizaciones intraabdominales extra-adrenales. (150)

Dos patrones de crecimiento se distinguen en estos tumores (76): el primero constituido por células ganglionares diferenciadas dispuestas entre fascículos entrelazados de células de Schwann; y el segundo formado por células anguladas de citoplasma basófilo y granular similar al feocromocitoma. La transición entre ambos patrones es brusca (30). Un panel de pruebas inmunohistoquímicas puede ayudar a elucidar los focos de células gangliónicas de los de células anguladas.(43).

Entre las asociaciones más significativas de este tumor compuesto podremos señalar su relación con la enfermedad de von Recklinghausen. En estos casos se desarrollan metástasis extensas con una mezcla de los dos componentes (122). También se ha descrito la asociación

con el schwannoma maligno (117),(119).

Muchos de los feocromocitomas compuestos son funcionalmente activos con liberación de un exceso de catecolaminas, pero hay un subgrupo de pacientes que tienen un síndrome de diarrea acuosa, provocado por la secreción de VIP (Síndrome de Verner-Morrison) (170), (111). La liberación del VIP se ha relacionado con un fenotipo gangliónico o neuronal (170), (111).

En cuanto a la patogenia de los feocromocitomas compuestos puede ser explicada en parte por el origen embriológico común a partir de la cresta neural reconociéndose una gran variedad de factores con una función regulatoria de la citodiferenciación (112), (94). Esta diferenciación vendría expresada por la multihormonalidad del tumor (111), (209).

4.2. FEOCROMOCITOMAS RECURRENTES.

Se consideran feocromocitomas recurrentes a aquellos casos donde después de extirpar el tumor primario aparecen signos clínicos funcionantes o recidivas del mismo. Por ello, una segunda elevación de las catecolaminas después de la intervención quirúrgica del tumor debe poner en marcha una minuciosa búsqueda de una segunda neoplasia en la adrenal contraria o en una localización extraadrenal (60).

En una revisión realizada por Remine y cols en 1988 (128) sobre 138 pacientes con feocromocitoma la proporción de recurrencias fue del 9,8%. Siendo el tipo de recidiva en la mayoría de estos pacientes de cinco o seis años después de la operación original. Sin embargo, según este autor es imposible predecir la recidiva sobre la base de las características microscópicas. Citológicamente el feocromocitoma benigno pueden presentar considerables variaciones en el tamaño y forma nuclear con numerosos núcleos hiper cromáticos gigantes;

mientras que los feocromocitomas malignos, pueden mostrar menor pleomorfismo.

Deben sospecharse la posibilidad de recurrencias o metástasis cuando se observe invasión de la grasa periadrenal o de los vasos sanguíneos o bien si aparece evidencia anatomopatológica de neuroblastoma o ganglioneuroma. Algunos autores han sugerido que los feocromocitomas que contienen dopamina son malignos; sin embargo, aunque la incidencia de malignidad es mayor en los tumores que contienen dopamina y sus precursores que en aquellos que contienen solamente epinefrina o norepinefrina,(100) concluyen que por sí solo la presencia de dopamina o su precursor no establece el grado de malignidad.

Utilizando como único criterio absoluto de malignidad la presencia de metástasis, menos del 5% de los tumores cromafines pueden ser considerados como malignos afectando principalmente éstas a los ganglios linfáticos, hígado y hueso particularmente vértebras, costillas y cráneo (125).

4.3.FEOCROMOCITOMAS EN LA INFANCIA.

El feocromocitoma es una causa poco frecuente de hipertensión arterial en la infancia. En contraste con la alta frecuencia de episodios hipertensivos de los adultos asociados con este tumor, la hipertensión sostenida se presenta alrededor del 90% de los niños (104). Los síntomas más comunes al igual que en los adultos, incluyen: cefalea, sudoración, náuseas, vómitos, pérdida de peso y disturbios visuales, siendo en los niños donde la polidipsia y poliuria puede ser encontrada hasta en el 25% de los casos. En la infancia los feocromocitomas muestran una

alta frecuencia de bilateralidad, multicentricidad y una asociación clara con paragangliomas extraadrenales lo cual refleja una predisposición genética para su desarrollo en la médula adrenal y en los paraganglios asociados.(45).

Los feocromocitomas de la infancia representan aproximadamente el 10% del total de feocromocitomas. Su peso medio oscila entre los 10 y los 30 gramos e histológicamente no difieren de los feocromocitomas de los adultos. Kaufmann y cols. (1983) presentan 100 casos en niños menores de 15 años, con una edad media en el diagnóstico de 11 años siendo la relación varón:mujer de 2:1 (159). En una revisión realizada por Hume en 1960 se descubre más frecuencia de afectación de la glándula derecha y una bilateralidad del 24% (74).

El 10% de los niños diagnosticados de feocromocitoma tiene una incidencia familiar de este tipo de neoplasias (74). Otros autores señalan entre el 30% (81) y el 50% (161).

Se ha descrito también mayor incidencia de comportamiento maligno cuando la localización es extraadrenal (131),(134).

4.4. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES.

Representan el 10 % de todos los feocromocitomas y en muchos casos son hereditarios con un patrón autosómico dominante con penetrancia alta. Se agrupan:

I. Feocromocitomas familiares asociados a síndrome MEN= Este grupo representa aquellos tumores cromafines con reconocida herencia que se asocian a Neoplasias Endocrinas Múltiples.

Su frecuencia estimada de presentación es del 30 al 70% en los MEN tipo IIa y IIb. (Tabla I).

II. Feocromocitomas familiares no MEN= Representan aquellos tumores cromafines con

herencia reconocida que se asocian a facomatosis mucocutáneas incluida la enfermedad de von Hippel-Lindau, enfermedad de von Recklinghausen, y síndrome de Stuger-Weber (Tabla I). Su frecuencia estimada en el síndrome de von Hippel-Lindau y en el síndrome de Stuger-Weber es del 5% excepto en la enfermedad de von Recklinghausen donde es del 0,5% al 1% (47). En un reciente estudio de la enfermedad de von Hippel-Lindau aportado por Atuk y cols (5), 7 de 13 pacientes afectados tenían feocromocitomas solitarios. De los seis pacientes restantes uno tenía feocromocitoma asociado con enfermedad de von Hippel-Lindau, cuatro tenían además retinopatía y sólo un paciente tenía lesión retiniana aislada.

En la tabla 1 se resumen las características más importantes de los feocromocitomas familiares.

En la tabla 2 se descubren las diferencias más importantes entre los feocromocitomas esporádicos y los asociados a síndrome MEN II.

TABLA 1. SINDROMES DE FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES.

	COMPONENTES DEL SÍNDROME
NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE (MEN tipo IIA)	-Hiperplasia de células C -Carcinoma medular de tiroides- Feocromocitoma -Adenomas o hiperplasia paratiroidea
NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE (MEN tipo IIB)	-Cáncer medular de tiroides, -Hiperplasia de células C -Hiperplasia medular adrenal-Feocromocitoma; -Ganglioneuromatosis gastrointestinal, mucocutáneas y corneal -Hábito marfanoide
ENFERMEDAD DE VON HIPPEL- LINDAU	-Angiomatosis retiniana, -Hemangioblastomas del SNC; -Quistes pancreaticos, hepáticos y epididimarios -Cáncer renal - Feocromocitomas.
ENFERMEDAD DE VON RECKLINGHAUSEN	-Neurofibromas cutáneos y viscerales -Manchas café con leche -Schwanomas malignos o benignos. -Meningiomas -Gliomas -Feocromocitomas
SÍNDROME DE STUGER-WEBER	-Hemangiomas cavernosos envolviendo la primera o todas las ramas de V par craneal -Feocromocitomas.

Tabla 2. Hallazgos diferenciadores entre feocromocitomas esporádicos y feocromocitomas asociados a síndromes MEN II.

CLÍNICA	ESPORÁDICOS	MEN 2
Edad media	45	30
Ataques paroxísticos	50%	>95%
Hipertensión sostenida	50%	>5%
PATOLOGÍA		
Lateralidad	Unilateral	Bilateral(>66%)
Multicentricidad	Ausente	Presente
Médula residual	Normal	Hiperplásico
Contenido del tumor en catecolaminas	NE>E	E>NE
Malignidad(metástasis)	10%	>5%

Según Dr. J.A. Carney 1994

NE= Noradrenalina o norepinefrina.

E=Adrenalina o epinefrina

Estudios realizados por DeLellis y cols (94) en pacientes con carcinoma medular de tiroides han demostrado que una de las primeras manifestaciones del síndrome MEN es la hiperfunción adrenal expresada por un incremento de la razón epinefrina/norepinefrina en orina. Análisis morfométricos de las glándulas adrenales de estos pacientes han revelado una hiperplasia

medular adrenal con un incremento en dos o tres veces el volumen medular y el peso de la glándula, en comparación con los controles. Similares hallazgos han sido encontrados por Carney y cols (25) en pacientes con historia familiar de carcinoma medular de tiroides, los cuales presentaron adrenales con grados extremos de hiperplasia nodular.

Hay formas especiales de MEN denominados MEN restrictivos, en donde se asocian tumores endocrinos con feocromocitomas y otros paragangliomas, además de otras patologías que no encajan en la definición clásica de Neoplasias Endocrinas Múltiples. Como ejemplo tenemos el caso estudiado por Gould y cols. en 1987 (51) diagnosticado de hiperaldosteronismo, y considerado como una variación esporádica del MEN tipo I. También se ha descrito un caso de feocromocitoma familiar MEN donde el tumor secretaba no sólo catecolaminas sino también el factor liberador de la hormona de crecimiento (GHRH) produciendo un cuadro de acromegalia (137). Esta compleja asociación con diferentes lesiones benignas y tumores endocrinos causa una fuerte controversia a la hora de considerar los síndromes de MEN tipo I, 2a y 2b como entidades inmutables (163).

D. CRITERIOS DE MALIGNIDAD DEL FEOCROMOCITOMA.

D.1. ASPECTOS CLÍNICOS.

La característica clínica principal del paciente con feocromocitoma es la hipertensión provocada por la liberación brusca de catecolaminas; ésta se presenta en el 50% de los casos como hipertensión paroxística y en el resto como hipertensión mantenida. Los aumentos paroxísticos de la presión arterial suelen ser desencadenados por la tensión emocional, la actividad física y por la palpación de la región tumoral. Existen numerosas sustancias que pueden provocar estos aumentos de la tensión arterial entre las que se encuentran la histamina, opiáceos, medios de contraste, hormona adrenocorticotropas, saralasin, glucagón y metoclopramida; la metoclopramida junto a la clonidina, tienen interés diagnóstico. Durante estos paroxismos, la presión sanguínea puede superar la presión sistólica de 250/150 mm de mercurio de diastólica (60). Además, la supuesta liberación repentina de catecolaminas puede desencadenar edema pulmonar agudo, fibrilación ventricular, hemorragia cerebral e incluso la muerte del individuo. Cuando no hay estos paroxismos, las manifestaciones más corrientes incluyen cefalalgia, sudoración excesiva, palpitaciones, temblores, nerviosismo y a veces sensación de debilidad (47). Del mismo modo, los pacientes con tumores cromafines pueden presentar episodios de hipotensión ortostática secundaria o bien a la disminución de volumen plasmático o bien a una abolición de los reflejos simpáticos. Ambos factores predisponen al paciente con feocromocitoma no diagnosticados a la hipotensión y al shock durante la cirugía y los grandes traumatismos. Además, pueden aparecer diferentes síntomas cardiovasculares de

la índole de dolor torácico, visión borrosa, disnea, rubor y vahídos (60).

La asociación hipertensión+cefalea+sudoración+palpitaciones supone el 94% de probabilidad de tener feocromocitoma.(47) La cefalea es intensa y pulsátil y se acompaña de síntomas neurovegetativos. Las palpitaciones se asocian con una sensación de intensa ansiedad o de muerte inminente.

Entre las manifestaciones cardiacas descritas en el feocromocitoma se ha observado la taquicardia y la bradicardia sinusal, las arritmias supraventriculares y las extrasístoles ventriculares.(60) Otras alteraciones electrocardiográficas descritas han sido las alteraciones inespecíficas del segmento ST y de la onda T, ondas U prominentes y bloqueos de rama derecho e izquierdo. La angina de pecho y el infarto puede aparecer aunque no exista arteriopatía coronaria. El aumento de consumo miocárdico de oxígeno inducido por las catecolaminas y, probablemente, el espasmo coronario, intervienen en la patogenia de las lesiones isquémicas. Además puede existir lesión miocárdica congestiva, miocarditis o fibrosis miocárdica; y también se ha descrito hipertrofia concéntrica y asimétrica. La lesión miocárdica se asocia a insuficiencia cardiaca, arritmias y es causa de muerte en estos enfermos. La lesión inicial es una degeneración miofibrilar del músculo miocárdico que característicamente es multifocal y tiene preferencia por localizarse en la región subendocárdica del ventrículo izquierdo.(60).

Más de la mitad de los pacientes presentan intolerancia a los hidratos de carbono debido a supresión de la insulina o la estimulación de la producción hepática de glucosa. Esta intolerancia a la glucosa casi nunca exige tratamiento específico con insulina ya que desaparece tras extirpar el tumor. (104).

Estos pacientes presentan una elevación del hematócrito que puede deberse tanto a una

disminución del volumen plasmático como a una eritrocitosis verdadera secundaria a la producción de eritropoyetina por parte de la neoplasia. El feocromocitoma cuando se sitúa en la pared de la vejiga urinaria produce paroxismos típicos hipertensivos durante la micción presentando la mitad de ellos además hematuria (60).

Se ha asociado el síndrome de Cushing con este tumor siendo el mecanismo responsable la producción ectópica de ACTH. En un estudio realizado por Spark y cols.(158) se describió unos niveles en plasma de ACTH que variaban proporcionalmente con la excreción de catecolaminas urinarias, sugiriéndose que un factor común regularían los péptidos y la secreción de catecolaminas. Siguiendo con el estudio de estos casos se observó que después de la extirpación del tumor, las catecolaminas urinarias llegan a ser normales mientras que el ACTH del plasma y los niveles de cortisol caen a cero. Estos hallazgos sugieren que la secreción de ACTH de los tumores cromafines suprimen el eje normal hipotálamo-hipofisario-adrenal. Sissons y cols.(156) demostraron que las sustancias ACTH-like en algunos feocromocitomas pueden ser observados por técnicas inmunohistoquímicas sobre secciones de tejidos o por radioinmunoanálisis de extractos tisulares. Se ha demostrado la leuencefalina-like inmunorreactiva en el 50% de los feocromocitomas, en adición con leu- y met-encefalina y una variedad de otros productos peptídicos, tales como el péptido intestinal vasoactivo, somatostatina, sustancia P y calcitonina.

D.2. ASPECTOS BIOQUÍMICOS.

Lo más importante del feocromocitoma desde el punto de vista bioquímico es el aumento en plasma y orina de catecolaminas y sus derivados (125), vanidilmandélico (VAMA),

metanefrinas y catecolaminas no conjugadas o libres. Esta elevación se hace mucho más patente en las crisis paroxísticas hipertensivas.

Las médula adrenal normal contiene en condiciones fisiológicas catecolaminas, de las cuales el 80% o 85% son epinefrina o adrenalina, sin embargo, el feocromocitoma segrega más noradrenalina que adrenalina. Según una revisión realizada por Neville (125) el 27% de los mismos segregan noradrenalina solamente.

El tumor cromafín presente en los pacientes con el síndrome MEN tipo II segrega más adrenalina que noradrenalina, habiéndose comprobado un incremento de la eliminación urinaria de adrenalina en relación con la noradrenalina, en los familiares de los pacientes afectos de feocromocitoma, representando la más temprana manifestación de la hiperfunción medular adrenal. Además estos tumores pueden liberar dopamina, dopa y serotonina habiéndose descrito a la dopamina como marcador potencial de malignidad del feocromocitoma. Sin embargo, también se ha demostrado niveles incrementados de dopamina en los tumores benignos. (104).

D.3. PATOGENIA.

Los feocromocitomas tienen los enzimas necesarios para convertir tirosina a catecolaminas y por ello la mayoría de los tumores segregan predominantemente noradrenalina así como también adrenalina y de forma más escasa dopamina, dopa y serotonina. Se ha indicado simultáneamente elevación de dopamina-beta-hidroxilasa, cromogranina A y catecolaminas en el plasma de algunos pacientes con feocromocitomas, lo cual sugiere que estas sustancias son liberadas por exocitosis. Entre estos péptidos se encuentran el VIP

(vasodilatador), péptidos opioides (encefalinas, beta-endorfinas, dinorfina), afa-MSH, somatostatina, hormona paratiroidea-like, calcitonina, serotonina, ACTH y el neuropéptido Y (un potente vasoconstrictor). Las asociaciones clínicas inmediatas a esta correlación son la hipercalcemia asociada a la excesiva secreción de calcitonina o paratohormona; la diarrea por la secreción de VIP y el síndrome de cushing acompañado de alcalosis hipokaliémica por la producción de ACTH.

La mayoría de las manifestaciones clínicas del tumor pueden ser atribuidas a la sobreproducción de catecolaminas, pero ciertos factores como la diarrea y el broncoespasmo no pueden ser asociados solamente al exceso de estas hormonas. Aunque las aminas biógenas son productos de los sistemas cromafines, otros factores también están presentes, incluyendo los péptidos neurohormonales cerebrales e intestinales. Los niveles en sangre del VIP, sustancia P, somatostatina y motilina fueron medidos en 37 pacientes con feocromocitoma por Herrera y cols (69) para determinar la prevalencia de hipersecreción de estos péptidos. De estos tumores 21 eran malignos, 10 eran benignos e intraadrenales y 6 eran ectópicos (5 pericárdico y 1 perirrenal). En todos los casos existía un aumento de la concentración de somatostatina (24%), motilina y sustancia P en el 13'5% y el VIP en el 8% de los casos. Del mismo modo se ha observado que los niveles de catecolaminas no se correlacionan con el grado o extensión de la actividad peptídica expresada por estos tumores.

Los feocromocitomas pueden segregar péptidos neurohumorales cerebrales e intestinales, particularmente si estos tumores son malignos (100). Estos pueden contribuir a su sintomatología acompañante como, por ejemplo, manifestaciones del tracto intestinal, flushing, hipotensión, hiperglucemia e hipercalcemia. Es de especial significación la asociación entre

enfermedades del tracto biliar y el feocromocitoma debido al efecto inhibitorio de la somatostatina sobre la función de la vesícula biliar.

Los efectos conocidos de los altos niveles de VIP podrían explicar algunos de los síntomas del flushing, hipercalcemia e intolerancia a la glucosa.

Se conoce que el contenido de las células del feocromocitoma es bastante variado e impredecible por la clínica. La ACTH segregada por el tumor cromafín además de otras hormonas, es considerada como la causa de la hiperplasia de la zona fasciculada de la corteza suprarrenal que origina hipercortisolemia clínica y síndrome de Cushing (SC) (158).

Generalmente la producción de ACTH ectópica ocurre en casos de tumor carcinoide del timo o bronquial, tumores de los islotes pancreáticos, carcinoma medular del tiroides o carcinoma de las células en "granos de avena" (113). Pero el lugar ectópico de producción pueden ser tan infrecuente como una tumoración inflamatoria en la cual los leucocitos producen la hormona (33), o tan improbable como un adenoma de células corticotropas en el interior de un teratoma ovárico (5).

Estudios recientes sugieren que la inmunorreacción para ACTH puede aparecer esporádicamente en el tumor cromafín con mayor incidencia que la que es de suponer, aunque la mayoría de éstos no tienen células positivas. La inmunorreactividad para ACTH, generalmente presente en células dispersas, ha sido encontrada en 14 de una serie de 88 casos (16.4%); sin que estén asociados a síntomas de hipercorticalismo (21).

La producción de ACTH y de péptidos relacionados no ha podido ser considerada como ectópica, después de demostrarse en la médula suprarrenal normal humana la existencia de células con inmunorreactividad para sustancias semejantes a la ACTH (100). Por otro lado, se

conocen más de 30 casos en los que el feocromocitoma es responsable de un síndrome de Cushing (90) (103) (158) (57). En la mayoría de ellos se demostró que la hiperplasia cortical subsecuente fue responsable del síndrome, siendo muy investigada la relación funcional entre la médula y la corteza suprarrenal, pues aparentemente no parecen relacionados entre sí. Es interesante que algunos casos descritos de tumores suprarrenales contienen ambos tipos celulares (células corticales y células cromafines); es lo que se ha llamado adenoma corticomedular, el cual se traduce en un síndrome de Cushing con crisis hipertensivas (106). Las fluctuaciones en los niveles plasmáticos de las ACTH coinciden con las variaciones en la excreción de catecolaminas urinarias lo cual sugiere que hay un factor común que regula los péptidos y la secreción de catecolaminas en estos pacientes.

D.4. ESTRUCTURA MICROSCÓPICA.

La mayoría de los feocromocitomas se parecen histológicamente a la médula adrenal normal. Por ello, las células tumorales se disponen alineadas en cordones y con un patrón alveolar denominados "Zelballen", aunque también es posible encontrar un patrón difuso.

Algunos tumores presentan un rico estroma vascular que le da un aspecto angiomaso. Los feocromocitomas se encuentran separados de la corteza por una delgada capa de tejido conectivo fibrovascular; además es posible ver formaciones quísticas, áreas de hemorragia, necrosis o cambios mixomatosos. También se ha demostrado depósito amiloide intersticial o vascular. Esta sustancia se ha encontrado presente en el 70% de estos tumores considerándose muy abundante en dos tercios de los casos (108). El cáncer medular de tiroides también presenta amiloide y al ser éste un tumor emparentado en casos familiares con el feocromocitoma (129),

se intentó hacer un estudio del amiloide del feocromocitoma y del encontrado en el cáncer medular del tiroides, observándose una estructura similar en el amiloide de ambos tipos de tumores que pertenecía a casos de MEN tipo II (94) (112).

Las células tumorales o feocromocitos tienen una forma poligonal y son frecuentemente más grandes que las células medulares adrenales normales. El citoplasma es vacuolado y contiene inclusiones PAS positivas que corresponden a cuerpos lisosomales gigantes. Algunas neoplasias presentan feocromocitos con un núcleo ovoide hiper cromático y pequeñas cantidades de citoplasma eosinófilo parecidos a los feocromocitoblastos.

Mediante estudios ultraestructurales (183) se dividieron a las células del feocromocitomas en dos grupos principales según la presencia (tipo I) o ausencia (Tipo II) de gránulos secretorios. Las células de tipo I se subdividieron a su vez en tres grandes grupos sobre la base del número y tamaño de los gránulos secretorios y vesículas. De esta forma, se describieron a las células de tipo IA como aquellas que contienen gran número de vesículas, pero relativamente pocos gránulos secretorios que miden aproximadamente entre 180+- 75 nm de diámetro. Las células tipo IB tienen numerosos gránulos que miden entre 130-+70 nm. Finalmente se han descrito las células IC con mayor número de gránulos que miden entre 220-+100 nm de diámetro. Tannenbaum encontró diferencias entre los que contenían adrenalina de los que contenían noradrenalina; observando que los tumores productores de norepinefrina puros tenían alta densidad electrónica en sus gránulos secretores y una membrana limitante; mientras que los tumores que contenían adrenalina poseían gránulos secretorios con menor densidad y contenidos densamente granulares en sus membranas limitantes. Estos gránulos tienden a ser mayores y de morfología indeterminada o atípica (108).

Watanabe y cols. en 1976 (176) demostraron una amplia variedad de anormalidades mitocondriales. Las mitocondrias mayores fueron encontradas en paragangliomas extraadrenales con un tamaño de hasta 3 micras de longitud y también describieron cuerpos esféricos intramitocondriales interpretados como cristales atípicos. Este mismo autor sugirió que los niveles disminuidos de los enzimas mitocondriales (monoaminoxidasa y succínico deshidrogenasa) se relacionaban con estas anormalidades morfológicas.

Los núcleos son generalmente redondos u ovalados y de apariencia vesicular con gruesos acúmulos de cromatina y nucleolo prominente, interpretándose las pseudoinclusiones nucleares como invaginaciones citoplasmáticas intranucleares. Aunque se encuentran figuras de mitosis en las lesiones benignas, la presencia de numerosas mitosis pueden alertar de un posible comportamiento agresivo o de la posibilidad de malignidad del tumor.

La morfología de los feocromocitomas clínicamente malignos es muy similar a aquellos tumores de comportamiento clínico benignos. La discriminación entre los dos se ha basado en la evaluación macro y microscópica lo cual es notoriamente difícil (88). Los tumores de mayor tamaño generalmente son clínicamente malignos (135) (108) (96), pero hay tal solapamiento con los feocromocitomas benignos que este factor sólo ofrece poco o ningún valor pronóstico. Medeiros y cols. describieron en el año 1985 (108) tumores de gran peso clínicamente malignos y constituidos por células pequeñas con extensas áreas de necrosis. Algunos autores han demostrado que no hay patrones histológicos de malignidad, siendo el único criterio aceptable para una designación maligna la presencia de metástasis (125).

D.5. ANÁLISIS CITOMÉTRICO DEL ADN.

Los análisis cuantitativos del ADN practicados sobre diversas series de feocromocitomas han dado resultados controvertidos.

Hay estudios que establece como criterio de buen pronóstico del feocromocitoma el valor ploide mientras que los aneuploides representan un mal pronóstico (95,73, 124); sin embargo otros (3, 127, 49) observan que no es tan clara dicha correlación.

Stenberg en 1992 resumió la citometría cuantitativa al estudio del feocromocitoma concluyendo que los tumores benignos tienen un patrón diploide ($2n$) mientras que los feocromocitomas malignos suelen estar asociados con un patrón hiperdiploide o triploide.

D.6. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO.

La habilidad para clasificar un tumor como adrenal o cromafín depende en parte del método utilizado para demostrar el contenido de catecolaminas de la lesión. La histoquímica de las catecolaminas ha sido tratada previamente en esta introducción (Pags. 11-12); algunos de los métodos histoquímicos más empleados para este propósito han sido la reacción cromafín clásica y sus variedades, así como las técnicas de fluorescencia. La reacción cromafín clásica se basa en la capacidad de este tumor para reaccionar con sales de dicromatos o ácido crómico, formando pigmentos marrón-oscuro que representan productos de oxidación de adrenalina y noradrenalina. Dicha reacción fue primariamente descrita por Henle en 1865 y es de gran importancia para el diagnóstico de feocromocitoma (147).

Se han desarrollado una variedad de técnicas para la demostración de epinefrina y

norepinefrina en secciones de tejidos fijadas en formol. En general, estos métodos carecen de especificidad y pueden demostrar una gran variedad de sustancias como melanina, lipofucsina y componentes tisulares que contienen una gran proporción de grupos sulfhidrilos. Estas son las reacciones sustitutivas cromafines y comprenden técnicas de argentifinidad y argirofilia, la técnica modificada de Giemsa y el método del cianuro férrico.

El más significativo avance de la demostración histoquímica de catecolaminas fue el desarrollo y perfeccionamiento de la técnica de fluorescencia en formaldeído realizado por Falck y Owman.(126). La reacción química básica implica la formación de derivados fluorescentes después de la condensación de gas formaldeído con catecolaminas e indoletaminas. La explicación de este método consiste en la inmovilización rápida de las aminas procedentes de tejidos por secado y congelación; y la subsecuente condensación de las mismas con formaldeído gaseoso. Las catecolaminas forman derivados isoquinólicos con una emisión máxima de 470 microm. que es visible con fluorescencia verde. Esta técnica posee alta sensibilidad y especificidad y produce una reacción positiva en tejidos en los que se conoce su contenido en catecolaminas, pero han dado negativo ó falsas reacciones cromafines. El método de ácido glioxílico empleando cortes de tejido congelado ha demostrado ser muy útil en el diagnóstico rápido de feocromocitoma y tumores relacionados (169).

Después de demostrar los niveles y la presencia de catecolaminas en el feocromocitoma se pueden abarcar una serie de campos tales como: comparar perfiles inmunohistoquímicos del feocromocitoma productor de ACTH y por tanto generador de Cushing, con otros feocromocitomas; intentar demostrar hormonas ectópicas en el tejido tumoral; aclarar si los métodos inmunohistoquímicos pueden permitir un claro diagnóstico entre feocromocitomas y

otros tumores adrenales; determinar la inutilidad o utilidad de ciertos anticuerpos monoclonales en comparación con otros marcadores tumorales neuroendocrinos; comparar el valor de los anticuerpos aplicados en parafina y el de tejidos congelados y determinar el posible valor pronóstico de la fracción de crecimiento en los tejidos tumorales. El resumen de hallazgos inmunohistoquímico encontrados por diversos autores se expresa en la tabla 3.

Los neuropéptidos contenidos en el feocromocitoma son diversos e impredecibles (63); un comportamiento similar puede ser visto en los paragangliomas (21). Incluyen un amplio espectro de aminas biógenas, particularmente catecolaminas y péptidos regulatorios. Como se demuestra en un reciente estudio de feocromocitomas (88) y de paragangliomas (79) casi en un 100% de los tumores investigados se encontraron células neoplásicas argirófilas inmunorreactivas con títulos de antisuero contra marcadores neuroendocrinos comunes.

Tabla 3. Relación de hallazgos inmunohistoquímicos.

Reactivo	Autor y año	Porcentaje positividad
Cromogranina	Herrera (1992)	(+++)
Renina	Fried (1994)	(++)
ACTH	Linnoila y Lack(1990) Ivanova (1990) Capella, Lauper(1988) Lamovec (1988)	28% 10% 16'4% 30-40%
VIP	Herrera (1992) Linnoila, Lack(1990) Ivanova (1990) Capella, Lauper(1988)	(+++) 43% 26% 50%
ENE	Herrera (1992) Linnoila,Lack(1990) Ivanova (1990) Seshi (1987)	(+++) 100% 100% (+++)
Calcitonina	Herrera (1992) Linnoila, Lack(1990) Ivanova (1990) Capella.Lauper(1988)	(+++) 23% 23'3% (+++)
Somatostatina	Herrera (1992) Linnoila, Lack (1990) Ivanova(1990) Capella, Lauper(1988) Sano (1986)	(--) 67% 53,3% 50% (+++)
Neuropéptido Y	Herrera (1992) Adrian (1983)	(+++) 57%

ENE =Enolasa neuronal específica

(+++)=Fuertemente positivo

(++)=Moderadamente positivo

Virtualmente todas las células presentes tanto en hiperplasias medulares adrenales como en feocromocitomas, contienen gran concentración de cromogranina (101), enolasa neuronal específica ENE (151), (69), (213), (88) (160) (81) (65, (151) Leu-7 y sinaptofisina (51). La única distribución heterogénea ha sido observada en el feocromocitoma familiar asociados con el síndrome de neoplasias endocrinas múltiples, ya que contienen menos cromogranina (101). Otros anticuerpos utilizados en el perfil inmunohistológico de los tumores cromafines han sido la queratina, vimentina, neurofilamento (69) y ACTH (96), (88), (160), (84), (65), (21), (160), (90). Del mismo modo, se ha demostrado calcitonina (69) (96), (88), (160), (84), (78), (55); insulina; glucagón; S100; EMA; CEA; alfa-HCG; y melanina . El VIP ha sido estudiado en los trabajos de Herrera y cols (69). Linnoila y cols. (96); Lack y cols (88); (65); y la somatostatina ha sido ampliamente revisada en la literatura (144), (55), (21), (65) y (96). Al igual que la sustancia P, la hormona adrenocorticotropa, el factor liberador de hormona de crecimiento, el factor liberador de corticotropina y galanina (9), (146). Mención aparte merece la renina demostrada inmunohistoquímicamente por Fried y cols, (40) y bioquímicamente por Capella y cols. (21), Lack (66), Tischler (168), Jovanovic y cols. (79).

CROMOGRANINA.

La cromogranina es un polipéptido ácido contenido en los gránulos cromafines adrenales que presenta tres grupos inmunológicamente distintos: cromogranina A, B y C. La más abundante es la cromogranina A que comprende el 40 al 50% del total de las proteínas granulares solubles de la médula adrenal. Recientemente se ha determinado que la cromogranina

B y C son, al menos, tan abundantes como la cromogranina A. La cromogranina C también se denomina secretogranina II. La combinación de estudios inmunoquímicos e inmunohistoquímicos revela que está presente tanto en neuronas como en células del sistema neuroendocrino difuso.

La cromogranina ha sido detectada en una variedad de tumores neuroendocrinos, incluidos adenomas de hipófisis, tumores de células de islotes, feocromocitomas, carcinoma medular de tiroides, adenomas paratiroideos y tumores carcinoides. La cromogranina A fue predominantemente encontrada en los feocromocitos mientras que era débilmente expresada o ausente en las células ganglionares. La secretogranina II fue encontrada en ambos tipos celulares con preponderancia en las células ganglionares (149) por lo que se convierte en un buen marcador de dichas células. Se ha demostrado que los anticuerpos policlonales contra una mezcla de cromogranina A y B pueden ser unos marcadores más sensibles que la cromogranina A en el diagnóstico de tumores neuroendocrinos (35).

Tabla 4. Subclases de cromogranina.

Subclase	Peso molecular	Hipófisis	Glándula paratiroidea	Páncreas endocrino	Médula adrenal
A	67 a 78	+	+	+	+
B	100 a 120	+	--	+	+
C	84 a 86	+	-	-	-

Un estudio de 10 feocromocitomas benignos y 3 malignos reveló que la cromogranina B estaba ausente en dos de cada tres tumores malignos, sin que los autores interpretaran estos hallazgos (178). En un reciente estudio la inmunotinción para la cromogranina y la sinaptofisina fue encontradas en los 18 feocromocitomas recogidas (180).

Las probables funciones de la cromograninas son las siguientes:

1. Participación en el empaquetamiento de gránulos, regulación de la concentración de calcio en los mismos y procesado de la hormona de los gránulos por sulfatación y fosforilación. (138).
2. La alta afinidad de unión para los cationes calcio indican una posible papel en la homeostasis del mismo (135). Más del 99% del calcio intravesicular está unido a la cromogranina o al ATP (19). La concentración de calcio que excede del ATP sugiere que la cromogranina une más calcio.(152).
3. La homología con la pancreastatina sugiere una tercera posible función-señal de rotura proteolítica.

ENOLASA NEURONAL ESPECÍFICA.

La enolasa neuroespecífica es una forma isoenzimática de la enzima enolasa presente en la vía glicolítica del sistema nervioso central y periférico de mamíferos. Por ello, es muy útil en el diagnóstico de tumores neuronales y derivados de la cresta neuronal. Está presente además en las células del sistema neuroendocrino difuso y del sistema APUD y por tanto en los tumores que derivan de estas células. Además, ha sido encontrada en tumores no neurales incluidos gliomas, meningiomas, schwannomas, papilomas del plexo coroideo, neurinomas, carcinoma y fibroadenomas de mama, carcinomas de células renales, melanomas y tumores ecrinos.

Por microscopía electrónica, se demuestra que la enolasa es una proteína citoplasmática, difusamente distribuida y no localizada en ninguna organela en concreto.

Fue primeramente localizada en las células cromafines de la médula adrenal normal por Schmenchel y cols (148) y también ha sido informada en feocromocitomas por Tapia y cols (163). Usando técnicas de inmunoperoxidasa, la enolasa neuronal específica exhibe típicamente una inmunorreactividad citoplasmática granular tanto en las células cromafines normales como en las neoplásicas (99).

SINAPTOFISINA.

El más reciente de los antígenos neuroendocrinos específicos es una glicoproteína ácida de 40-90 nm de diámetro situada en la membrana de las vesículas presinápticas de las neuronas bovinas, de las cuales fue originalmente extraída como anticuerpos monoclonales designados SY 38. Respecto a la función, la sinaptofisina parece participar en la liberación dependiente del calcio de los neurotransmisores.

La localización inmunohistoquímica de la sinaptofisina es similar a la de las cromograninas, pero es aparentemente más características de las células endocrinas. Se encuentran en las células de los islotes de Langerhans, feocromocitos, neuronas cerebrales, de la médula espinal de la retina, placa neuromuscular, corteza cerebral, células de Purkinje, segmentos del nervio periférico de la dermis y células de los islotes pancreáticos de los adultos. La tinción tiende a ser granular y en la periferia de las células neurales, con una localización que va paralela a la distribución de los gránulos en estas células (181),(27). La sinaptofisina es un marcador tumoral muy útil y una glucoproteína de membrana de las vesículas secretorias;

(116),(52),(27),(180),(43), por ello es lógico que esté presente de manera constante en las células tumorales del feocromocitoma.

Otras neoplasias donde han podido ser encontradas son: neuroblastoma adrenal, meduloblastoma, carcinoma neuroendocrino pulmonar y melanoma (52).

SOMATOSTATINA (SRIF).

La somatostatina es un tetradecapéptido cíclico con un puente disulfuro entre los residuos 3 y 14 de la cisteína que inhibe tanto "in vivo" como "in vitro" la liberación de la hormona de crecimiento sea cual fuere el estímulo; por el contrario, no inhibe ni su biosíntesis ni su almacenamiento. Además, inhibe la liberación de TSH en respuesta a la TRH, pero no la liberación de prolactina ni de gonadotropinas. Por último, esta hormona tiene la propiedad notable de disminuir también la secreción de insulina y glucagón por el páncreas endocrino, siendo su vida media de sólo minutos (114).

La somatostatina está presente en varias localizaciones tales como elementos neuronales, órganos digestivos y recientemente se ha demostrado en la médula adrenal humana y en el feocromocitoma extra-adrenal (145). Sano (145) fue el primer autor que la describió en el feocromocitoma adrenal, observándola en pequeñas células y en algunas que simulaban células gangliónicas. Las SRIF y las catecolaminas coexisten en las mismas células. De hecho la coexistencia de SRIF y noradrenalina ha sido recientemente demostrada en los ganglios simpáticos, médula adrenal y feocromocitomas extra-adrenales (145).

ACTH.

La ACTH ha sido descrita en ciertos tipos de feocromocitomas. Es un polipéptido presente en la adenohipófisis en un 15% (rango de 9% al 25%) de sus células (133), que se distribuye predominantemente en el lóbulo medio, aunque las células corticotropas son también vistas en el lóbulo anterior. Un factor interesante de estas células es la presencia de pequeños, y bien definidos, espacios esféricos vacíos en el citoplasma yuxtenuclear, que Russfield designó como "cuerpos enigmáticos" (1968). Estos cuerpos pueden ser numerosos en condiciones fisiológicas y se piensan que representan lisosomas (72).

Inmunohistoquímicamente se ha demostrado CRH y ACTH en los feocromocitomas (161) (78).

POLIPÉPTIDO INTESTINAL VASOACTIVO.

El péptido intestinal vasoactivo es un polipéptido de 28 aminoácidos perteneciente a la familia que incluye el péptido histidina isoleucina (PHI), el factor liberador de la hormona de crecimiento (GHRF), glucagon, péptido inhibidor gástrico (GIP) y la secretina (142),(7). El VIP es un neurotransmisor o neuromodulador peptidérgico, íntimamente asociado con la acetilcolina en el sistema nervioso parasimpático (37). Su principal función incluye la vasodilatación, absorción de agua y secreción de electrolitos en el intestino y páncreas así como la relajación del músculo liso, particularmente alrededor de los esfínteres (143), (142).

Inmunohistoquímicamente se ha localizado en estructuras neuronales del sistema nervioso central y periférico, incluido los nervios intrínsecos del tracto gastrointestinal. De hecho, en el sistema nervioso central se encuentra en neuronas y fibras nerviosas de varias áreas del córtex cerebral, hipotálamo, núcleo amigdalino y cuerpo estriado. También ha sido estudiado

en neuronas del plexo de Meissner y, ocasionalmente, en el plexo de Auerbach del tubo digestivo. En el aparato digestivo las fibras nerviosas VIP positivas son abundantes en la mucosa, submucosa y músculo circular; y en menor número también han sido visualizadas en el músculo longitudinal. El VIP contenido en las fibras nerviosas están predominantemente sobre las paredes de los vasos y particularmente sobre los esfínteres musculares tales como el cardias y el píloro (142); además, las estructuras nerviosas VIP positivas son bastantes abundantes en el páncreas.

La excesiva producción de VIP ha sido asociada con el llamado síndrome de Verner-Morrison, también llamado cólera pancreático o la WDHA (Diarrea acuosa, hipokaliemia, aclorhidria) (14), (174). Estos pacientes presenta diarrea acuosa que puede exceder de 3 a 5 litros por día, acompañado por hipokaliemia e hipo o aclorhidria. La mayoría de los pacientes con este síndrome tienen un tumor pancreático endocrino, pero también ha sido asociado con tumores endocrinos intestinales, carcinoma "oat cell", neuroblastoma o ganglioneuroma y feocromocitomas (13).

En el caso de los feocromocitomas que secretan VIP, solamente unos pocos de estos pacientes presentan hipertensión, la ausencia de la misma podría ser atribuida a los efectos vasodilatadores del VIP y al incremento del volumen plasmático de estos pacientes (69).

CALCITONINA.

La calcitonina es un péptido de 32 aminoácidos que tiene una importante actividad homeostática con el calcio. Sintetizada como un precursor peptídico de 17.5 kd. es metabolizada a su forma bioactiva final en el retículo endoplásmico y es empaquetada en los gránulos

secretorios. Este péptido se opone a la acción de la paratohormona al inhibir la resorción de hueso y promover la incorporación de fosfato en el mismo, con lo cual produce un descenso de los niveles de calcio sérico. Recientemente, se ha aislado un péptido homólogo a la calcitonina relacionado con el gen de ésta (CGRP). Aunque las funciones "in vivo" de la CGRP son desconocidas, las funciones "in vitro" incluyen la inhibición de la secreción gástrica de clorhídrico y pepsina, junto a la inhibición de la secreción pituitaria de la hormona de crecimiento con una potente acción vasodilatadora (185).

La calcitonina se localizó en un principio en las células C del tiroides (20), pero también ha sido demostrada en lugares extra-tiroideos como la pituitaria anterior, las células neuroendocrinas bronquiales, la médula adrenal, la paratiroides y el timo (32),(11).

Estudios inmunoestructurales de las células C han localizado calcitonina en dos tipos de gránulos: tipo I, con tamaño de 280 nm de diámetro, y una membrana moderadamente densa; y tipo II, con tamaño de 130 nm de diámetro y alta densidad electrónica (93).

Por otro lado, CGRP está localizada en las células C y en un subtipo de las células paratiroides (185). Por inmunohistoquímica ultraestructural se ha demostrado que los gránulos contienen tanto calcitonina como CGRP.

RENINA.

La renina, enzima proteolítica de origen renal, desdobra un sustrato específico para producir angiotensina I, constituyendo una parte de un sistema conocido como sistema renina-angiotensina-aldosterona, el cual se localiza junto al aparato yuxtglomerular para desembocar en la formación intrarrenal de angiotensina II (AII).

Así pues, el sistema renina-angiotensina parece indispensable para el mantenimiento de la presión arterial en el animal y en el hombre sometidos a una deplección de volumen. En condiciones de normovolemia, la angiotensina II participa también (aunque de forma inconstante) en el mantenimiento de la presión arterial.

Los tumores productores de renina son raros y han sido descritos en el pulmón, páncreas, ovarios y región paraovárica (43). Bioquímica e inmunohistoquímicamente se ha demostrado en el feocromocitoma tanto en las células gangliónicas como cromafines (43). Hay varios trabajos que demuestran la hiperplasia de las células del aparato yuxtaglomerular productoras de renina en pacientes con este tumor; sin embargo, muy pocos estudios han indicado la producción de la misma por la neoplasia (31). En la glándula adrenal normal algunas células de la corteza (zona glomerulosa y zona reticular) presentan inmunorreactividad para la renina (123) habiéndose encontrado que el ARNm de la misma se expresa tanto en la cortical como en el tejido medular (135). La presencia de los dos componentes del sistema renina-angiotensina ha sido sistemáticamente investigada en los tejidos adrenales normales y patológicos con dos objetivos:

- 1) La detección de renina y especialmente angiotensinógeno.
- 2) El estudio de las posibles diferencias en la coexpresión de renina y angiotensinógeno en tejidos de origen cortical y medular.

La renina de las glándulas adrenales normales representa hasta el 56% del total detectable en el organismo y hasta el 87% en el tejido neoplásico (135). Esta alta proporción de la misma indica una alta conversión de prorenina a renina en el interior de estos tejidos. El angiotensinógeno y su ARNm fueron detectados tanto en las glándulas adrenales normales como

en las patológicas siendo la cantidad de angiotensinógeno ARNm mayor en el feocromocitoma. También demuestra que la renina y el angiotensinógeno se coexpresan tanto en el tejido normal como en el patológico. Los tejidos de diferentes orígenes celulares (zona glomerulosa, fasciculada y tejido medular) fueron capaces de expresar, almacenar y procesar renina y sintetizar angiotensinógeno. No existiendo relación clara entre la expresión de estas proteínas y la patofisiología de la glándula adrenal.

Tabla 5. Niveles de renina y prorrenina en tejidos adrenales normales y patológicos.

Tejido	n° de casos	renina (pg/g tejido)	renina total (prorenina pg/g tejido)	% de renina
Glándula adrenal normal	5	92-2,392	144-6280	45-68
Feocromocitoma	10	48-948	60-1416	67-100
Aldosteronismo primario	11	20-1.292	20-2.544	32-100
Carcinoma adrenocortical	4	64-1984	72-2580	77-100
Adenoma cortical no secr.	7	248-1684	424-2664	55-92

(297) .(Racz et al, 1992).

HMB-45.

La proteína HMB-45 está asociada con unas patologías muy específicas como son el nevus de la unión, melanoma maligno y lesiones relacionadas. La misión principal del anticuerpo HMB-45 ha sido establecer el diagnóstico de melanoma. Este anticuerpo se estudió en los feocromocitomas malignos buscando una posible marcador de las células derivadas de la cresta neural (172). Otros tumores donde también se han demostrado esta proteína ha sido el

carcinoma de células claras del pulmón y el angiomiolipoma renal. (172).

OTROS MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS.

Los péptidos opioides han sido encontrados como marcadores útiles de diferenciación neuroendocrina (173), (59), (184),(185),(16).

También se ha demostrado inmunotinción para J1 B-tubulina y microtúbulo asociada a la proteína 2 (MAP 2).(43). La molécula de adhesión del tipo (N-CAM) están presentes en los feocromocitomas y en una amplia variedad de tumores. Algunas de estas moléculas de adhesión pueden jugar un importante papel en la invasión y metástasis tumorales (6).

Los nuevos péptidos regulatorios endocrinos como la pancreastatina podrían ser añadidos a los péptidos neurohormonales encontrados en el feocromocitoma, así como la glicentina (79). La inmunotinción para la galanina fue demostrada por Bauer y cols en 1986 (9) y Sano y cols (146).

El enzima convertidor de la angiotensina (89) y el factor de crecimiento insulín-like (62) han sido identificados inmunohistoquímicamente en el tumor.

El neuropéptido Y que se aísla normalmente del cerebro, médula adrenal y fibras de sistema nervioso autónomo se encuentra del mismo modo, en el ganglioneuroblastoma y en el feocromocitoma donde parece tener valor diagnóstico (1).

Los receptores del factor del crecimiento epidérmico (FCE) se encuentran en el feocromocitoma pero son más comunes en carcinoma cortical adrenal. FGE induce diferenciación de las células del tumor y potencia la secreción de catecolaminas según Kimura y cols (83).

La vimentina ha sido demostrada en células tumorales del feocromocitoma en secciones congeladas (43) y (83). En la tabla 6 se revisan los hallazgos inmunohistoquímicos encontrados por Herrera.

Tabla 6. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICOS DEL FEOCROMOCITOMA.

	Nº de células +	Intensidad
Enolasa específica neuronal	(++++)	(+++)
Cromogranina	(++++)	(++++)
Polipéptido intestinal vasoactivo	(++)	(++++)
Serotonina	(+)	(+++)
Calcitonina	(+)	(++)
Neurofilamentos	(+)	(+++)
S100 proteína	(+++)	(+++)
Anticuerpo catecolamina	(+++)	(+)
ACTH	(-)	(-)
Beta-endorfina	(-)	(-)
Gonadotropina coriónica alfa	(-)	(-)
Proteína ácida glial fibrilar	(-)	(-)
Antígeno carcinoembrionario(CEA)	(-)	(-)
Bombesina	(-)	(-)
H. liberadora de corticotropinaCRF	(-)	(-)
H. liberadora de H.crecimientoGRF	(--)	(-)
Somatostatina	(-)	(-)

Herrera y cols, 1992 (69)

(+++) **Muy positivo**

(++) **Positivo**

(+) **Débilmente positivo**

D.7. GENÉTICA TUMORAL DEL FEOCROMOCITOMA.

Un análisis de la patogenia de los feocromocitomas fue hecho en casos familiares, bilaterales o multicéntricos que pertenecen a neoplasias endocrinas múltiples (MEN) tipo 2a y 2b. Una delección del brazo corto de cromosoma 1 fue demostrada en una alta proporción de tumores procedentes de estos individuos, incluidos los feocromocitomas (105). Otras anormalidades citogenéticas fueron identificadas sobre el cromosoma 10 que está implicado en la herencia del síndrome MEN 2a (105). Concretamente del proto-oncogen RET. Sus altos niveles de coexpresión se correlacionan con los tumores derivados de la cresta neural. En el caso del feocromocitoma el protooncogen RET se sobreexpresa con menos proporción en los tumores esporádicos (15%) que en los casos asociados a síndrome MEN.(187).

El oncogen N-myc de los feocromocitomas muestra una disminución significativa de su expresión. La expresión del N-myc es muy baja en los feocromocitoma adrenales en contraste con la expresión que se detecta en el neuroblastoma (132).

En lo que respecta la oncogen C-erbB-2 fue detectado en el 20% de los feocromocitomas con un patrón heterogéneo de tinción. La glándula adrenal adyacente no neoplásica nunca es inmunorreactiva para el c-erbB-2. En los casos de inmunorreactividad los patrones de tinción fueron localizados tanto en la membrana plasmática con en el citoplasma. El significado pronóstico desfavorable del c-erbB-2 en el carcinoma de mama y ovario (157) induce a sugerir que la sobreexpresión del c-erbB-2 en los feocromocitomas puede tener un valor pronóstico predictivo aunque esto último debe ser establecido. Usando el porcentaje de células tumorales, el c-erbB-2 se obtiene una correlación entre el porcentaje de células que expresan el oncogen y la agresividad del tumor teniendo en cuenta la existencia de metastasis a distancia o la

asociación con otras neoplasias malignas. También se han encontrado altos niveles de C-erbB-2 sobreexpresado en el MEN en comparación con los casos esporádicos. Estos resultados prueban la evidente implicación del oncogen C-erbB-2 en la patogenia de los feocromocitomas y el posible significado pronóstico desfavorable de su expresión. (186).

Un alto grado de heterogeneidad para los productos N-myc se ha descrito en 4 de 27 casos de feocromocitomas (138). La detección del producto L-myc en estos tumores es interesante "per se" ya que representa la primera evidencia inmunohistoquímica de la presencia de esta proteína en tumores humanos (138).

Las oncoproteínas c-myc (138) y c-fos fueron raramente detectadas en los feocromocitomas. Goto y cols (1990) demostraron por análisis Northern-blot la presencia de transcripción c-myc y c-fos en 6 de los 6 casos de tumores cromafines que estudiaron. Del mismo modo, no encontraron expresión del c-myc/c-fos en la médula adrenal normal. Estos autores demostraron en la misma serie la expresión del "insulin growth factor-II" (IGF-II).

E. Hallazgos asociados.

E.1. Asociaciones poliendocrinas: familiares y no familiares.

El 28% de los paragangliomas simpaticoadrenales muestran inmunotinción positiva para la ACTH (97), siendo los feocromocitomas una causa bien conocida de síndrome de Cushing debido a la producción ectópica de ACTH (110); (155), (12), (41), (158),(53),(130); o por la producción de corticotropin-releasing factor (CRF). La ACTH-like inmunorreactiva ha sido observada en la médula adrenal normal (97), (100). Algunos síndrome de Cushing se han descrito en MEN tipo 2a que cursa con carcinoma medular de tiroides y en feocromocitomas bilaterales productores de ACTH ectópica. Grizzle y cols (53) midieron los niveles en el plasma de ACTH y de producción de esteroides descubriendo una alta producción de cortisol en contraste con sólo modestos niveles de ACTH de estos pacientes. La posible explicación de esto último es la cercanía de la producción de ACTH por el tumor de la corteza pudiendo tener los pacientes con síndrome de la ACTH ectópica un grado severo de síndrome de Cushing (130). El polipéptido ACTH-like inductor de hiperplasia adrenocortical bilateral e hiperfunción puede causar el llamado síndrome de ACTH ectópica.

Algunas características de los casos del feocromocitoma asociados con el síndrome de Cushing son:

- La mayoría de los pacientes son mujeres con un rango de edad entre los 26 y 67 años con una media de 46; siendo los no metastásicos la norma general.
- Poseen una historia breve de seis meses o menos de duración.
- En algunos pacientes, ciertos factores clínicos de producción de ACTH ectópica difieren de los clásicos del síndrome de Cushing.

- Los pacientes con tumores cromafines desarrollan alcalosis, pérdida de peso, hirsutismo y profunda debilidad.
- Un pequeño porcentaje de casos se asocian al MEN-II o a neurofibromatosis.
- Existe una alta mortalidad en aquellos pacientes con feocromocitoma productor de ACTH.

Entre las causas de muerte que se apuntan están la cirugía, el período inmediato postoperatorio y la diseminación metastásica después de la cirugía.

Los paragangliomas adrenales y extraadrenales muestran una secreción amplia de neuropéptidos eutópicos, ectópicos y hormonas junto a las catecolaminas. Entre los péptidos regulatorios están las encefalinas, endorfinas, MSH, Neuropéptido Y, somatostatina, ACTH, Calcitonina, VIP y sustancia P que pueden ser detectados en el tumor cromafín. Estas sustancias pueden, al menos en parte, afectar a la esteroidogénesis cortical adrenal y a la proliferación celular, bien directamente o a través de su circulación sistémica. Por ejemplo, la ACTH ha sido encontrada entre el 12,5 al 21,4% de feocromocitomas no asociados con síntomas de hiperadrenocorticalismo.

Según Linnoila y cols. (96) la ACTH aparece más frecuentemente en los tumores clínicamente malignos que en aquellos benignos, lo que sugiere la posibilidad que los paragangliomas que expresen este neuropéptido tengan peor pronóstico.

Un síndrome de diarrea acuosa también ha sido publicado en asociación con feocromocitoma (107), (140), (39) tanto como en feocromocitomas compuestos (170), lo cual ha sido atribuido a la liberación del péptido intestinal vasoactivo por el tumor (107), (140), (39), (170), (111). Este síndrome de la diarrea acuosa también ha sido referido como síndrome de Verner-Morrison o WDHA (diarrea acuosa, hipokaliemia y aclorhidria). Había inmunotinción

positiva para el VIP en el 43% de los paragangliomas simpatoadrenales, pero ninguno de estos pacientes tenía síndrome de diarrea acuosa y casi ninguno de los tumores mostró factores neuronales o gangliónicos (97).

Los feocromocitomas y los paragangliomas extra-adrenales se han asociado con hipercalcemia (162), (150), (64) (179), (147). Algunos casos fueron adscrito a la producción de parathormona-like (162), (150) o calcitonina (150),(139),(179). La asociación de feocromocitoma e hipercalcemia sugiere la posibilidad de MEN tipo 2, lo cual puede ocurrir en ausencia de este síndrome. En un caso publicado, el paciente tenía paraganglioma del cuerpo carotídeo bilaterales, un paraganglioma extra-adrenal y un ganglioneuroma adyacente (179).

Otra asociación inusual con el feocromocitoma incluye policitemia debida a la producción de eritropoyetina (184). Del mismo modo diarrea y esteatorrea (77) y malabsorción con esteatorrea (164) posiblemente debido a la secreción de somastostatina por el tumor. También ha sido publicado la producción y secreción del factor liberador de la hormona de crecimiento (144).

Niveles altos de renina en el plasma han sido encontrado en algunos pacientes con feocromocitomas y en ausencia de la estenosis de las arterias renales lo que ha sido atribuido a la estimulación directa de las células que contienen renina en el riñón por las catecolaminas (82).

E.2. Anormalidades asociadas al feocromocitoma.

Entre las anormalidades asociadas podemos contar con la displasia fibromuscular envolvente de los vasos renales (102) o en una más amplia distribución multifocal (123). Estos tumores han sido observados un gran número de veces en asociación con estenosis de la

arteria renal, que en la mayoría de los casos ha sido atribuido tanto al vasoespasmio inducido por las catecolaminas, como a la compresión de la arteria por el tumor o a la aterosclerosis (102). Algunos especulan que el incremento de los niveles de catecolaminas pueden causar cambios morfológicos comparables con displasia fibromuscular debido al espasmo de la vasa vasorum, pero la baja frecuencia de esta lesión vascular en pacientes con feocromocitomas podrían contradecir esta interpretación (102).

La hemorragia espontánea retroperitoneal (92), y la existencia de aneurismas intracraneales múltiples ha sido descrita en pacientes con feocromocitoma. Algunos pacientes con feocromocitoma manifiestan una cardiomiopatía catecolamínica.

Otros desórdenes asociados con feocromocitoma incluyen la colelitiasis (23% de pacientes) (136), displasia fibrosa (26) y una variedad de anomalías constitucionales o metabólicas (104). Recientemente, se ha informado de dos pacientes con feocromocitomas y timomas concurrentes (136).

Una posible lista de asociaciones poliendocrinas además de feocromocitoma (88) es:

-Quemodectoma, tumor carcinoide bronquial, adenomas pituitarios, hiperplasias de las glándulas paratiroides y células productoras de gastrina duodenales.

-Adenomas pituitarios, hiperplasia de paratiroides y paragangliomas funcionales múltiples extra-adrenales.

-Carcinoma medular de tiroides, adenomas paratiroides múltiples, adenomas corticales adrenales y carcinoma bronquial de células pequeñas.

-Feocromocitomas bilateral/familiar, tumor de las células de los islotes pancreáticos.

-Adenoma pituitario y feocromocitoma.

- Adenoma pituitario, carcinoma papilar de tiroides, cirrosis biliar primaria, hiperplasia paratiroidea, leiomioma gástrico y amiloidosis sistémica.
- Enfermedad de von Recklinghausen, feocromocitoma, tumor carcinoide duodenal y la variedad de carcinoides ricos en catecolaminas.
- Enfermedad de von Recklinghausen, feocromocitoma, paraganglioma yugulotimpánico y paragangliomas pulmonares.
- Feocromocitomas y carcinoma papilar de tiroides.

E.3. Relación de adenomas corticales y feocromocitomas.

Los síndromes de Cushing asociados con feocromocitomas son usualmente inducidos por la ACTH que es secretada ectópicamente por el tumor observándose una hiperplasia cortical en la glándula adrenal ipsilateral y contralateral. Además ha sido descrita la concurrencia de tumor medular adrenal y adenoma adrenocortical hormonalmente activo . La asociación de adenoma cortical adrenal mixto-feocromocitoma (adenoma corticomedular) es rara y solamente se han publicado dos casos (139). Serrano describió un caso de una mujer de 61 años que presentaba tumor adrenal renal derecho con una excesiva secreción de catecolaminas y cortisol y con test de supresión a la dexametasona negativo. Los nódulos estaban compuestos de una mezcla de células adrenales y feocromocitomas. El patrón microalveolar del adenoma fue dominante en algunos nódulos y los feocromocitos con citoplasma vacuolado y núcleo hiper cromático de variable tamaño fue dominante en otros.

F. Otros aspectos.

F.1. Diagnóstico diferencial.

Debe plantearse con todos los estados clínicos de hipertensión mantenida o paroxística: ansiedad, estados de tensión, ataques de pánico, psiconeurosis, psicosis, hipertiroidismo, taquicardia paroxística, estados circulatorios hiperdinámicos beta-adrenérgicos; cefalea por vasodilatación (migraña y cluster headaches); síndrome de insuficiencia de las coronarias, encefalopatía hipertensiva aguda, diabetes mellitus, enfermedad de la arteria renal o del parénquima renal con hipertensión; insuficiencia arterial focal del cerebro o lesiones intracraneales, hiperreflexia autonómica, toxemia del embarazo o eclampsia con convulsiones; crisis hipertensivas asociadas con inhibidores de la monoamino-oxidasa, carcinoide, hipoglucemia, mastocitosis y acrodinia. Así como con otros tumores cromafines: neuroblastoma; ganglioneuroblastoma y ganglioneuroma. Terminaría la lista de diagnóstico diferenciales la enfermedad infecciosa aguda y el abuso de la cocaína.

F.2. Tratamiento del feocromocitoma.

El tratamiento que mejores resultados obtiene es el quirúrgico. La cirugía debe realizarse en centros experimentado en el tratamiento preoperatorio, anestésico e intraoperatorio de pacientes con feocromocitoma. La mortalidad quirúrgica de estos centros es inferior del 2 al 3%.

El tratamiento médico prolongado es necesario en los tumores metastásicos, con invasión local y con enfermedades intercurrentes que contraindican la cirugía. La quimioterapia de combinación comprende ciclos de ciclofosfamida, vincristina y dacarbazina (DTIC) de veintiún

días de duración. En un grupo de 15 pacientes se obtuvieron 8 respuestas completas y 7 respuestas parciales con un 73% de respuestas bioquímicas significativas con reducción del nivel de catecolaminas. La duración media de la respuesta al tratamiento quimioterápico fue mayor de 18 meses (28).

G. Criterios de valor pronóstico en el feocromocitoma.

Con la excepción de aquellos casos donde se demuestra metástasis a distancia, no hay criterios absolutos que permita distinguir los feocromocitomas benignos de los malignos. Tanto la invasión vascular focal como la capsular son criterios insuficientes, por ellos mismos, para diagnosticar un feocromocitoma maligno. En un estudio de Linnoila y cols. en 1990 (96) se describieron una serie de factores frecuentemente encontrados en los tumores malignos, que pueden tener un valor predictivo como la predominancia de varones; la localización extraadrenal; el mayor peso tumoral (383 gramos frente a 73 grs. para los tumores benignos); la necrosis tumoral confluyente; la presencia de invasión vascular y extensa invasión local. Los glóbulos citoplasmáticos hialinos fueron encontrados en el 59% de los benignos y en el 32% de los malignos.

Si llegamos a la conclusión que la metástasis son utilizadas como el único criterio de malignidad menos del 5% de los feocromocitomas son malignos.(128).

La citomorfometría también ha sido usada para el diagnóstico y pronóstico de feocromocitomas sin resultados definitivos (95).

II. PLANTEAMIENTO DEL TEMA.

En el feocromocitoma, los "criterios morfológicos" que diferencian los tumores benignos de los malignos son controvertidos; puesto que no existen factores inequívocos de malignidad salvo la presencia de metástasis, siendo insuficiente la invasión capsular y vascular, ya que también pueden aparecer en tumores benignos. No obstante, los tumores malignos tienden a ser de mayor tamaño, a presentar áreas de necrosis y a estar formados por células de menor tamaño.

Los estudios inmunohistoquímicos de los tumores han demostrado, en general, una correlación entre la presencia de determinadas sustancias inmunorreactivas y el comportamiento agresivo de las neoplasias.

El feocromocitoma tiene una "forma de presentación" variable, bien esporádico o bien familiar asociada a los síndromes MEN IIb o familiar no encuadradas a síndromes MEN. Lo cual nos ha permitido plantear nuestro trabajo en tres grupos con la finalidad no sólo de analizar inmunohistoquímicamente algunos marcadores que nos sirvieran de valor pronóstico, sino también para que podamos definir unos parámetros específicos de cada uno de los grupos referidos.

El feocromocitoma es una entidad patológica asociada con gran cantidad de síndromes paraneoplásicos producidos por la liberación de sustancias activas por el tumor, como el síndrome de Cushing por la producción de ACTH. También se ha descrito una diarrea acuosa producida por la liberación de VIP o la hipercalcemia por una producción de PTH-like o calcitonina. También se ha estudiado un aumento de la incidencia de hiperglucemias o litiasis biliar en cuya patogenia se encuentra implicada la somatostatina. Por lo cual la demostración inmunohistoquímica de VIP, ACTH o somatostatina en el feocromocitoma y su correlación con los datos clínicos nos acercaría a conocer mejor la fisiopatología de estos síndromes

paraneoplásicos.

A partir de estos datos el objetivo de nuestro trabajo ha sido:

- 1.- Demostrar inmunohistoquímicamente la presencia de cromogranina, sinpatofisina, somatostatina, HMB-45, calcitonina, ACTH, VIP y enolasa neural específica en todos los casos analizados.
- 2.- Elaborar a partir de las diversas variables morfológicas e inmunohistoquímicas un sistema diagnóstico multiparamétrico con valor pronóstico.
- 3.- Establecer en los diferentes tipos de feocromocitomas esporádicos y familiares un patrón inmunohistoquímico que permita diferenciar cada uno de los grupos referidos relacionándolos con los datos anatomopatológicos y clínicos.
- 4.- Correlacionar los diferentes aspectos morfológicos de las lesiones con la sintomatología endocrina y los síndromes paraneoplásicos asociados al tumor.

III. MATERIAL Y MÉTODO.

A. MATERIAL.

Se seleccionaron con carácter retrospectivo 37 casos de feocromocitoma obtenidos de piezas de extirpación quirúrgica, de los cuales 26 de ellas procedieron directamente del Hospital Universitario Virgen del Rocío, mientras que 11 derivaron de casos del Hospital Virgen Macarena de Sevilla.

En todos los pacientes en que fue posible se revisaron los datos clínicos, el tratamiento y la evolución de la enfermedad.

Los casos fueron recogidos en un período de tiempo que comprenden desde el año 1976 hasta 1993 ambos inclusivos, estudiándose tanto el aspecto clínico y de seguimiento, como las características anatomopatológicas desde el punto de vista morfológico e inmunohistoquímico.

1. ASPECTOS CLÍNICOS .

Se han investigado datos de filiación, sintomatología y seguimiento terapéutico que incluyen:

a) Edad (años) y tipo de sintomatología (endocrina o no) en el momento del diagnóstico, así como el sexo. En primer lugar se estudiaron los síntomas clínicos principales del feocromocitoma principalmente la tensión arterial. Se tuvieron en cuenta las cifras tensionales en el momento del diagnóstico y durante las crisis hipertensivas, se correlacionaron estos datos con las repercusiones de estos niveles tensionales a nivel vascular ya sea cardiaca (cardiopatía catecolamínica) o retiniano (retinopatía hipertensiva). Seguidamente tomamos en cuenta datos exploratorios tales como la obesidad distinguiendo si pudieran encuadrarse en rasgos

cushingoides. Para terminar el estudio clínico se examinaron datos analíticos tales como aminas biógenas en orina y glucemia plasmática.

b) Estado y tiempo de seguimiento tras el tratamiento hasta la fecha del fallecimiento y/o última revisión. Asimismo, se evaluó el tiempo de evolución de la enfermedad previo al diagnóstico y el tiempo libre de enfermedad (en caso de recidiva o metástasis) ambos en meses. De igual modo se reseñó la existencia de segundas neoplasias.

c) Se agruparon a los casos desde el punto de vista clínico en tres grupos:

1º) Feocromocitomas esporádicos . Constituyen en realidad, veinticinco casos donde no se ha podido demostrar una historia familiar clara de patología asociada.

2º) Feocromocitomas MEN. El segundo grupo contempla once casos que presentaron una historia familiar con carcinoma medular de tiroides. Por lo cual quedan incorporadas al síndrome MEN IIa.

3º) Feomocrocitomas no MEN. En un tercer grupo de neoplasias familiares se constató una asociación en tres casos con la enfermedad de von Recklinghausen y en un cuarto con la enfermedad de von Hippel-Lindau.

Todos los pacientes fueron tratados quirúrgicamente, con finalidad curativa o paliativa (en caso de neoplasia maligna diseminada) y no recibieron otro tipo de terapia oncológica.

2. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS.

En todos los casos el material se fijó en formol tamponado al 10% y se incluyó en parafina de forma convencional. Se estudiaron todas las muestras histológicas existentes de las cuales se seleccionaron aquellas más representativas de la lesión; se obtuvieron cortes

histológicos de 5 micras de grosor que se utilizaron para estudio convencional (teñidos con hematoxilina-eosina) e inmunohistoquímico.

2.1. ESTUDIO MORFOLÓGICO CONVENCIONAL.

En lo referente a la lesión, se estudiaron las siguientes variables a nivel macroscópico:

- 1) Peso tumoral, donde se reseñaron los valores máximos y mínimos registrados.
- 2) Del mismo modo se valoró la localización del tumor con especial atención a las formas unilaterales o bilaterales.
- 3) Especial importancia tuvo la coloración de la lesión, reflejando la mayor o menor vascularización existente en la misma.
- 4) Por último, la consistencia de la neoplasia fue otro aspecto a considerar.

La hematoxilina-eosina sirvió para calibrar las siguientes variables:

- 1) Patrón arquitectural, donde se valoró la disposición de las células en feocromocitos alineados en cordones de pequeño o gran patrón alveolar con la posibilidad de ver patrones trabeculares y difusos.
- 2) Características citoplasmáticas donde se describió principalmente la tinción (eosinofilia, basofilia o clara) y el aspecto (homogéneo o heterogéneo).
- 3) Rasgos anatomopatológicos nucleares, donde a su vez se analizaron de forma independiente:
 - Anisocariosis o variabilidad marcada del tamaño nuclear.
 - Pleomorfismo. Con esta variable se estudió, fundamentalmente, la irregularidad del contorno nuclear y la presencia de hendiduras nucleares.

- Cromatina. En este apartado se evaluó la distribución de la misma, homogéneo en grano fino o heterogénea y grosera.

4) Necrosis, donde se valoró su presencia y extensión.

5) Invasión vascular. En esta variable a su vez se consideró su presencia reconocida por la existencia de nidos tumorales irregulares, con atipia nuclear alta, situado en luces que mostraban tapizamiento endotelial y adheridos a su pared, el tipo de vasos y su localización (capsular o extracapsular).

6) Respuesta inflamatoria con la presencia de infiltrado linfocitario en el interior de parénquima tumoral, bien de tipo focal o difuso.

7) Características microscópicas de la corteza analizando su aspecto citológico y el grado de hipertrofia celular.

8) Invasión capsular, reconocida por la presencia de cordones o nidos de tumor unidos a través de la cápsula con la reacción estromal correspondiente.

9) Presencia o no de cápsula aparente.

2.2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

En el material empleado para el estudio inmunohistoquímico destaca en primer lugar, el uso de una serie de anticuerpos primarios del tipo de :

- ACTH. Prediluido a la solución de trabajo y de la casa comercial Dako.

-CALCITONINA Utilizada a la dilución 1:200 suministrada por la casa Dako. Necesitando tratamiento enzimático previo con tripsina.

CROMOGRANINA Se utilizó el anticuerpo monoclonal a la solución de trabajo suministrado por la casa Biomeda.

ENOLASA NEURONAL ESPECÍFICA Se utilizó a la dilución 1:200 suministrado por Dako.

-SINAPTOFISINA Se utilizó la sinaptofisina de conejo anti-humano a la dilución 1:50 con tratamiento enzimático previo con tripsina.

-SOMATOSTATINA: Empleamos anticuerpos policlonales de conejo contra la somatostatina a la dilución de trabajo proporcionado por Chemicon internacional.

-VIP: Se usó un anticuerpo policlonal contra el péptido intestinal vasoactivo proporcionado por Biomeda a la dilución de 1:200.

-HMB 45: Prediluido o a la solución de trabajo y de la casa Biomeda.

Dentro de los anticuerpos empleados el secundario o puente se encuentra marcado con biotina y ha sido suministrado por la casa comercial Dako y utilizado a las diluciones de 1/50 y 1/100.

Destaca dentro del material utilizado el uso de controles positivos o tejidos conocidos previamente como poseedores de receptores para los diferentes anticuerpos estudiados. El páncreas y los islotes de Langerhans del páncreas fueron el control elegido para el estudio de la somatostatina y el VIP; las células corticotropas de la adenohipófisis para la ACTH; el melanoma para el HMB-45; siendo el propio caso conocido de feocromocitoma el control para la enolasa neuronal específica y la cromogranina; con la calcitonina se utilizó como controles células C del tiroides de rata que muestran reacción cruzada con la calcitonina humana.

B. MÉTODO.

1. ESTUDIO ÓPTICO.

Las piezas fueron fijadas en formol tamponado al 10% durante 24 horas y procesadas en parafina de modo rutinario. En todos los casos se estudiaron un mínimo de 3 bloques.

Los cortes seriado de 5 micras de grosor fueron sometidos al siguiente proceso de tinción con hematoxilina-eosina:

- 1-Desparafinar los cortes en xilol e hidratar en alcoholes de graduación decreciente hasta llegar a agua destilada.
- 2-Cubrir con Hematoxilina de Harris durante 3 minutos.
- 3-Lavar en agua corriente.
- 4-Viraje de la hematoxilina con una solución saturada de carbonato de litio pH 8.
- 5-Lavar con agua destilada.
- 6-Cubrir los cortes con una solución de eosina alcohólica al 0'25% de 3-60 segundos.
- 7-Aclarar con agua corriente.
- 8-Deshidratar en alcoholes de graduación creciente.
- 9-Aclarar en xilol y montar en DPX.

A partir de los cristales de hematoxilina-eosina representativos de cada caso se escogió aquellos que poseían corteza y médula suprarrenal por su importante valor diagnóstico para el estudio inmunohistoquímico.

2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

La pauta seguida fue la siguiente:

1. Desparafinar los cortes en dos cambios de xilol, de 10 minutos cada uno.
2. Llevar a etanol absoluto e hidratar en alcoholes de graduación decreciente hasta llegar al agua destilada.
3. En los casos que lo necesitaron, como por ejemplo la sinaptofisina y la calcitonina se realizó un tratamiento con tripsina. Este tratamiento consistió en la preparación de una solución que contenía 0'1 gramos de cloruro cálcico y 0'1 gramos de tripsina disuelta en 75 cc de solución de agua destilada a 37° C durante un minuto.
4. Inhibir la peroxidasa endógena y la pseudoperoxidasa con agua oxigenada al 3%, durante 20 minutos.
5. Lavar en agua destilada 5 minutos.
6. Lavar en tampón Tris 0'05 con NaCl al 7'5% (TBS) durante 5 minutos.
7. Bloqueo de la tinción inespecífica con suero normal de la especie del antisuero secundario a dilución 1/10, durante 20 minutos, en cámara húmeda y a temperatura ambiente.
8. Escurrir e incubar con el antisuero específico frente a los anticuerpos ya señalados en el material inmunohistoquímico a las diluciones ya especificadas durante 18-24 horas en cámara húmeda y a 4° C.
9. Realizar 3 lavados con TBS, de 3 minutos cada uno.
10. Incubar con el antisuero secundario biotinado a dilución 1/100 durante 20 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.
11. Realizar 3 lavados con TBS, de 3 minutos cada uno, en puente.

12. Incubación con el complejo ABC (Avidina-Biotina-Peroxidasa) durante 20 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente.
13. Realizar 3 lavados con TBS de 3 minutos cada uno.
14. Revelado en DAB (diaminobencidina tetrahidroclorhídrico: 3 mg/10 ml TBS más una gota de agua oxigenada al 30%) durante 1 a 3 minutos, bajo control microscópico. Los cortes se cubrieron con la mezcla recién preparada y filtrada. El tiempo empleado en el revelado varió sustancialmente según el antisuero utilizado.
15. Los cortes se lavaron bien en agua destilada.
16. Contraintinción con hematoxilina de Harris.
17. Deshidratación y montaje .

IV. RESULTADOS.

Se han estudiado 36 pacientes diagnosticados de feocromocitomas recopilados entre los años 76 al 93 en los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío de Sevilla. 25 eran feocromocitomas esporádicos y 11 feocromocitomas familiares; de éstos 7 se agrupan bajo la denominación de síndrome MEN 2a, y 4 han sido encuadrados en los llamados feocromocitomas familiares no MEN. Del mismo modo, entre los feocromocitomas esporádicos hay 3 asociados con otras neoplasias del tipo de cáncer de mama, cervix y sigma independientes del tumor cromafin.

A. FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS ADRENALES.

Como ya se ha indicado están incluidos aquellos casos donde no se ha observado un agrupamiento familiar en su forma de presentación y con rasgos comunes tales como la afectación unilateral.

A continuación se exponen los resultados globales más relevantes en los diferentes aspectos estudiados (valoración clínica, estudio histológico y análisis inmunohistoquímico).

1) Valoración clínica de los tumores.

La edad de presentación (tabla 2) osciló entre los 10 años y 78 años. 8 casos se presentaron por debajo de los 30 años y 17 eran mayores de dicha edad. En el primer grupo fueron reconocidos dos casos en edad pediátrica, de 10 y 12 años, que presentaron una localización unilateral a nivel de la adrenal derecha. (Gráfico 1).

En cuanto al sexo, 13 pacientes fueron del sexo femenino y 12 se describieron del

masculino. Los dos pacientes en edad pediátrica eran varones.(Tabla 2).

Entre los datos clínicos que permitieron el diagnóstico de este tipo de neoplasias se encontró como más constante la hipertensión arterial, presente en todos los casos (Tabla 2) y (Gráfico 3). Las cifras tensionales recogidas oscilaban entre un valor de presión sistólica de 279 y 140 mm de Hg (valor medio de 180 mm); la tensión arterial diastólica varió desde 80 a 160 mm de Hg, con un promedio de 120 mm. Según los promedios tensionales verificados antes del tratamiento quirúrgico, la mayoría de los casos presentaron hipertensión severa. (Gráfico 3). La forma de presentación de la tensión arterial más frecuente fueron las crisis hipertensivas. Estas crisis eran expresión de una liberación brusca y masiva de catecolaminas, que se constató mediante la medición en orina de aminas biógenas (Tabla 1). Estas mismas aminas sirvieron en la práctica clínica de control y evolución de los casos estudiados después de la extirpación quirúrgica.

Tabla 1. Niveles de aminas biógenas en orina de los pacientes con feocromocitomas esporádicos.

CASO	NA. (ngr/ml)	A. (ngr/ml)	VAMA (ngr/ml)	AHV.(ngr/ml)
1	0'800	0'300	0'600	-
2	0'800	0'400	7	5'94
3	0'100	0'0	0'300	6'500
4	1'600	0'1	26'2	5'900
5	4'800	0'400	9'3	-
6	0'400	0'800	13'9	8'100
7	0'200	0'300	7'500	3'200
8	0'800	0'400	23'800	4'900
9	0'400	0'200	29'700	4'100
10	0'500	0'500	9'800	2'100
11	0'200	0'100	14'6	7'6
V.P.	0'96	0'318	12'97	5'37

NA=Noradrenalina. Valores normales de noradrenalina = 0,638 ngr/ml.

A=Adrenalina. Valores normales =2,2 ngr/ml.

AHV=Acido Homovalínico. Valores normales =6'5ngr/ml.

VAMA=Acido vanidilmandélico. Valores normales = 12 ngr/ml

V.P.= Valor promedio de aminas biógenas en orina entre los casos recopilados.

Dentro de la valoración clínica y como consecuencia de las crisis hipertensivas, se observaron una serie de complicaciones tales como la retinopatía hipertensiva. En un paciente fue catalogada como de grado I y II (caso 4) y en otro como de grado IV (caso 8) (Tabla 2). Otra complicación fue la miocardiopatía catecolamínica resultado del daño vascular provocado por éstas sobre el corazón (Tabla 2).

Fue un hallazgo frecuente, hasta en el 50% pacientes con feocromocitomas esporádicos, los niveles elevados de glucemia basal que fueron interpretados tanto como hiperglucemias reactivas como cuadros de diabetes mellitus tipo II.

Existió un 25% de casos de obesidad entre las personas afectas del tumor, principalmente mujeres. Este sobrepeso, que en algunos pacientes superó el 50% del peso teórico, no fue posible especificar si se encuadraban dentro de un hábito cushingoide.

Otras patologías coincidentes con el feocromocitoma esporádico fueron el infarto agudo de miocardio (caso 11), riñón izquierdo ectópico (caso 22), cólico nefrítico (caso 19), tuberculosis (caso 17), pleuresía (caso 14), talasemia menor (caso 12), pericarditis (caso 7) y segundas neoplasias tales como cérvix, mama, sigma y ovario borderline (caso 3 y 20).

Tabla 2. Variables clínicas y de seguimiento en pacientes con feocrocitomas esporádicos.

Caso	Edad	Sexo	Tensión arterial mm/Hg	Aminas biógenas en orina.	Signos y síntomas clínicos.
1	64	M	140/80	Aumento NA y VAMA	Crisis hipertensivas Hipertrofia ventricular izquierda
2	10	V	130/80 200/100	Aumento VAMA, NA y A	Cefalea Convulsiones tónico-clónicas
3	57	M	N.C.	N.C.	Cáncer de cérvix Cáncer de ovario
4	47	V	210/140**	Aumento A y NA	Retinopatía hipertensiva I-II
5	34	V	180/95	Aumento A y NA	Palpitaciones
6	20	V	180/110**	Aumento de A y NA	
7	22	V	220/160	N.C.	Pericarditis
8	41	M	160/100	Aumento de NA, VAMA y DA	Cáncer de mama izquierda. Retinopatía hipertensiva Metástasis hepática
9	20	M	190/110**	N.C.	
10	78	M	210/140**	N.C.	Paraganglioma yuxtaadrenal
11	57	M	190/110	Aumento NA y de VAMA	Infarto agudo miocardio
12	59	V	270/110**	Aumento de NA y VAMA	Pérdida de peso, hiperglucemia y miocardiopatía, talasemia menor
13	34	V	N.C.	N.C.	
14	44	M	40/110	Aumento de NA y VAMA	Hipercalcemia. Pleuresía
15	26	M	180/110**	Aumento de A y NA	Miocardiopatía catecolaminica
16	57	M	N.C.	N.C.	Feocromocitoma extraadrenal
17	51	V	N.C.	N.C.	Tuberculosis
18	N.C.	M	140/80	Aumento de A	Obesidad
19	N.C.	V	200/110 240/130**	Aumento de A, NA y DA	Cólico nefrítico
20	N.C.	M	N.C.	Aumento de NA	C. mama izquierda. Neo de sigma y cervix. Metástasis en ganglio

Caso	Edad	Sexo	Tensión arterial mm/Hg	Amina en orina	Signo y síntomas clínicos
21	12	V	190/130	Aumento de NA y VAMA	Miocardopatía hipertensiva
22	47	M	230/140**	Normal	Paraganglioma extra-adrenal Riñón izquierdo ectópico
23	29	V	N.C.	N.C.	N.C.
24	46	V	N.C.	N.C.	Paraganglioma de vejiga urinaria

N.C.: No constatado. No se han obtenido datos fidedignos de la historia clínica.

A= Adrenalina.

NA= Noradrenalina.

DA= Dopamina.

VAMA= Acido Vanilil Mandélico.

***= Presentación en forma de crisis hipertensiva.*

V=Varón.

M=Mujer.

2) Estudio morfológico.

El peso de las piezas tumorales osciló entre 5 y 480 gramos. El 50% de los tumores pesaron por debajo de los 50 gramos y un 20% de los mismos más de 100 gramos.

La localización en el 50% de los pacientes fue la suprarrenal derecha; y el 30% la izquierda. El 20% restante fueron neoplasias cromafines extra-adrenales que se localizaron en retroperitoneo y vejiga urinaria (Gráfica 1). Existieron metastásis en hígado y retroperitoneo en un 10% de los feocromocitomas esporádicos.

El tamaño osciló entre 1 y 14 centímetros.

Un 30% de los tumores tuvieron un aspecto macroscópico nodular y multinodular. Otro 30% presentó formas ovoides, lobuladas y abollonadas. El resto de los tumores se le atribuyó una morfología imprecisa e irregular.

Generalmente presentaron áreas de hemorragia y necrosis, así como zonas amarillentas.

La consistencia al corte fue blanda, elástica y fluctuante.

Microscópicamente se analizaron una serie de parámetros histológicos del tumor tales como atipia o pleomorfismo, índice mitótico, invasión vascular, cápsula, hipercromasia nuclear y la descripción de la corteza adyacente al tumor (Tabla 3).

Los feocromocitomas esporádicos presentaron atipia o pleomorfismo leve o muy leve en un 85% de los casos; y moderado en un 15% .

El índice mitótico ha sido $<1/10$ campos de gran aumento en el 80% de las piezas estudiadas; con $1/10$ campos en el 5% y ausencia de mitosis en el 15% restante (Tabla 3).

La invasión vascular se constató en el 5% de los tumores.

La presencia de una cápsula adyacente al tumor conservada se constató en el 50% de los pacientes.

Otros rasgos descritos fueron la congestión vascular en un 5% de los casos; núcleos hipercromáticos en un 10%; áreas hemorrágicas en un 20% y áreas necróticas en un 25%. Se describieron áreas quísticas en el interior del parénquima tumoral en un 15% de las neoplasias. Un sólo caso presentó clara diferenciación gangliocítica (Caso 15).

La corteza suprarrenal adyacente al tumor estaba atrófica en el 50% de los casos, con hiperplasia en el 25% y normal en el 25% restante. La hiperplasia se constató a expensas de las capas fasciculada y reticular. Por otro lado, la atrofia no afectó a la totalidad de la corteza suprarrenal adyacente.

Tabla 3. Rasgos anatomopatológicos de los feocromocitomas esporádicos.

Caso	Peso gr.	Corteza suprarrenal	Atipia y pleomorfismo	Indice mitótico	Invasión vascular	Otras Observaciones
1	38 .	Normal	Moderado	<1/ 10campos	-	Núcleos grandes hipercromáticos
2	40	Atrófia	Muy leve	<1/10 campos	-	No configuración nodular
3	140.	Atrófia	Muy leve	<1/10 campos	-	Cápsula conservada.
4	114	Hiperplasia.*	Leve	<1/10 campos	-	Corteza sin configuración nodular.
5	15	Atrófia	Leve	<1/10 campo	+	Celularidad uniforme
6	45	Atrófia	Moderado	<1/10 campo	-	Tumor muy vascularizado y congestivo
7	480	No valorable	Muy leve	<1/10 campo	-	Cápsula presente
8	20	Hiperplásica*	Leve	<1/10 campo	-	Cápsula presente. No configuración nodular cortical
9	22	Normal	Muy leve	<1/10 campo	-	Núcleos hipercromáticos
10	125	Nodularidad focal. Atrófia	Leve	<1/10 campo	-	Cápsula fibrosa. Focos hemorrágicos.
11	20	No valorable	Muy leve	<1/10 campo	-	Núcleo hipercromático
12	200	Atrófia	Leve	<1/10 campo	-	Célula multinucleada
13	94	No valorable	Leve	<1/10 campo	-	
14	12	Normal	Leve	1/10 campo	-	Cápsula fibrosa.
15	230	Atrófia	Nulo	0/10 campo	-	Cápsula
16	10	-	-	-	-	No valorable
17	195	Atrófia	Escaso	0/10 campo	-	Cápsula evidente. Núcleos hipercromáticos
18	230	No valorable	Nulo	<1/10 campo	-	Cápsula evidente
19	34	Atrófia	Moderado	<1/10campo	-	Cápsula evidente.
20	30	Ligera atrofia	Leve	0/10 campo	-	Cápsula conservada.
21	50	No valorable	Leve	<1/10 campo	-	Evidente

*= Corteza hipeplásica a expensas de la capa fasciculada y reticular.

3). Valoración inmunohistoquímica de los feocromocitomas esporádicos.

Los resultados obtenidos mediante el estudio inmunohistoquímico en los feocromocitomas esporádicos están reflejados en la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis inmunohistoquímico de los feocromocitomas esporádicos.

Caso	Sinap.	Cromo	Somat.	HMB-45	Calciton.	ACTH	VIP	ENE
1	++	++	-	-	-	-	-	+
2	++	++	-	-	-	-	+	+
3	+	++	+	-	-	-	-	-
4	+++	++	-	-	+	-	+	+
5	+	++	-	-	+	++	-	+
6	+++	++	+	-	-	-	-	+
7	+++	++	-	-	+	-	-	+
8	+++	++	-	-	-	+	+	+
9	++	++	-	-	-	-	-	+
10	++	++	-	-	+	++	+	+
11	++	++	-	-	-	-	-	-
12	++	++	-	-	-	-	+	+
13	++	++	-	-	+	+	++	++
14	++	++	-	-	+	+	+	-
15	++	++	-	-	-	-	-	-
16	++	++	-	-	-	-	+	+
17	++	++	-	-	-	-	+	+
18	+	++	-	-	-	-	-	+
19	++	++	-	-	-	-	++	-
20	+	++	-	-	+	+	-	++
21	++	++	-	-	+	+	+	++

Caso	Sinap.	Cromo	Somat.	HMB-45	Calciton.	ACT H	VIP	ENE
22	+	++	-	-	+	+	-	-
23	++	++	-	-	-	-	-	+++
24	++	++	-	-	-	-	-	++
25	+	++	-	-	-	-	-	++
Global	100%	100%	7'69%	0%	34'6%	30'7%	53%	77%

+ débilmente positivo

++ moderadamente positivo

+++ positividad muy fuerte

Sinap. = Sinaptofisina.

Cromo = Cromagranina.

Somat. = Somatostatina

Calciton. = Calcitonina

VIP = Péptido Intestinal Vasoactivo

ENE = Enolasa Neuronal Específica.

Como se observa en la tabla 4, el estudio inmunohistoquímico de los feocromocitomas esporádicos ha demostrado que el 100% de los casos son positivos para la sinaptofisina. El patrón de tinción predominante ha sido el homogéneo +++ (Fig. 1), excepto en el caso 20 donde las células positivas formaron un pequeño grupo aislado en el interior del tumor (Fig. 2).

Todos los tumores estudiados han tenido inmunorreacción positivo a la cromogranina con una distribución tisular homogénea de moderada positividad. La tinción citoplásmica de dichas células muestran un carácter granular afectando a la totalidad del mismo. (Fig. 4).

Para la somatostatina, el 7% de las neoplasias estudiadas han mostrado una débil positividad. Uno de los casos presentó positividad en grupos celulares a modo de islotes entre zonas de inmunotinción negativa. El caso 3 presentó tinción citoplasmática homogénea.

La inmunorreactividad para el HMB-45 ha sido negativa en todos los casos.

La calcitonina presenta una reacción positiva en el 34% de los tumores. El patrón observado más frecuentemente fue en grupos celulares de moderada positividad. La tinción

celular se localizó a nivel citoplasmático sin patrón granular (Fig. 5).

La inmunotinción con ACTH fue positiva en un 30% de los feocromocitomas esporádicos. El 90% de los que presentaron inmunoreacción positiva presentaron patrón homogéneo en todo el tumor (Fig.6). En un 10% la inmunoreactividad frente a la ACTH fue en grupos pequeños a modo de islotes entre el parénquima tumoral negativo. El 40% de los tumores calcitonina positivo son positivos a ACTH. Hemos analizado la corteza suprarrenal adyacente de los feocromocitomas con inmunoreactividad positiva frente a la ACTH, siendo positivas frente a este reactivo tanto en la capa fasciculada como en la zona reticular con una distribución homogénea (Fig. 7).

El VIP fue positivo en el 53% de los tumores en forma de elementos celulares dispersos sin seguir un patrón morfológico plenamente definido.

Con el anticuerpo para la enolasa neuronal específica se obtuvo positividad en el 75%. Lo más frecuente observado fue un patrón homogéneo de moderada a fuertemente positivo en todo el tumor (Fig. 8). Un 15% de los positivos presentaron una distribución en forma de células aisladas débilmente positivas.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, un hallazgo a destacar es la inmunorreactividad observada en la zona interna de la corteza adyacente al tumor tanto para sinaptofisina como para ACTH en una proporción similar a la encontrada en dichas neoplasias (Fig. 2).

B. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES. SÍNDROME MEN.

1) Valoración clínica.

La edad de presentación osciló entre los diecinueve años y 62 años.(Tabla 6) siendo la

edad media de 33 años. (Gráfica 5).

En cuanto al sexo cuatro fueron mujeres y tres fueron varones (Tabla 6).

El 95% de los pacientes afectados de feocromocitomas familiares MEN presentaron clínica de hipertensión arterial con solo un paciente normotenso en el momento del diagnóstico. (Tabla 6). Los valores de tensión arterial sistólica oscilaron entre 210 y 130 mm. Hg. Estos pacientes presentaron frecuentemente crisis hipertensivas durante las que se realizó una medición sistemática de aminas biógenas en orina (Tabla 5).

Tabla 5. Niveles de aminas biógenas urinarias en pacientes con Feocromocitomas MEN.

	A. ngr/ml	N.A. nrg/ml	A.H.V. ngr/ml	VAMA nrg/ml	5HIA nrg/ml	DA nrg/ml
V.P.	1'06	0'944	6'48	48'86	8'6	3'31

NA=Noradrenalina. valores normales 0,638 ngr/ml.

A=Adrenalina. valores normales de 0,200 ngr/ml.

HV=Homovalínico. valores normales 6'5 ngr/ml.

VAMA=Ácido vanidilmandélico. valores normales de 12'5 ngr/ml.

5HIA= 5 hidsroxi-indolacético. Valor normal 12,5 ngr/ml.

DA=Dopamina. Valor normal 12,5 ngr/ml.

V.P.=Valor promedio calculado entre los diferentes casos encontrados.

Se constató el diagnóstico de carcinoma medular de tiroides en todos los casos, siendo habitual que se hiciera primero el diagnóstico de la neoplasia tiroidea que el de la glándula suprarrenal. La calcitonina producida por el cáncer medular de tiroides se ha utilizado como marcador tumoral del mismo por lo que la normalización de las cifras de calcitonina ha sido la norma después de la extirpación del tumor tiroideo. Sin embargo, en un caso 15 continuaron elevados los niveles de calcitonina y de PTH debido a la presencia de metástasis hepáticas.

Otras patologías relacionadas posiblemente con el tumor fueron un adenoma paratiroideo (caso 15) y la litiasis biliar (caso 21).

Tabla 6. Variables clínicas de los feocromocitomas tipo MEN.

Caso	Edad	Sexo	Tensión arterial mm/Hg	Aminas biógenas en orina	Signos y síntomas clínicos
1	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	Cáncer medular de tiroides
2	29	V.	**	Aumento de VAMA	Cáncer medular de tiroides
3	28	V.	**	N.C.	Cáncer medular tiroides, obesidad, aumento de ACTH
4	45	V.	N.C.	N.C.	Cáncer medular de tiroides
5	19	M.	N.C.	N.C.	Cáncer medular de tiroides
6	52	M.	140/80	Aumento de A.,NA. y VAMA	Cáncer medular de tiroides y coleditiasis
7	26	M.	N.C.	N.C.	Cáncer medular de tiroides

A= Adrenalina

NA=Noradrenalina

VAMA= Ácido Vanilil Mandélico

N.C.=No constatado

**=Crisis hipertensiva

V=Varón.

M=Mujer.

2) Estudio morfológico.

El peso de los tumores osciló entre 10 y 230 gramos.

La localización de los feocromocitomas fue bilateral. Solamente en un caso la lesión afectó a la suprarrenal izquierda. Otro emplazamiento observado junto a la afectación bilateral ha sido la del ganglio paraaórtico. Un paciente debutó con un feocromocitoma unilateral tenido que ser reintervenido a los cinco años de la glándula suprarrenal contralateral al continuar las crisis hipertensivas y el aumento de las catecolaminas urinarias demostrándose después de la extirpación que existía un tumor contralateral.

La forma del tumor varió desde formas irregulares a formaciones nodulares.

La coloración osciló desde tumores de tono amarillento parduzco a otras de color rojo debido a la abundante vascularización que presentaban.

La consistencia fue blanda y homogénea presentando fragmentos de tejido adiposo adheridos. Practicamente todos los casos aparecían rodeados de una cápsula dura que no estaba infiltrada por la neoplasia.

Tabla 7. Rasgos anatomopatológicos en los feocromocitomas asociados a MEN.

Caso	Peso	Corteza	Pleomor.	Indice mitótico	Invasión vascular	Observaciones
1	200d	Atrófica	Leve	0/10campo	+	
2	94d 34i	Atrófica*	Leve	-	-	No cápsula
3	12d 10i	Atrófica*	Leve	<1/10campo	-	
4	230d	Atrófica*	Leve	0/10 campo	-	Cápsula
5	10d	Atrófica*	Leve	+1/10campo	-	Patrón angiomatoideo
6	195d 20i	Atrófica	No pleomorf.	<1/10campo	+	Cápsula
7	230d	Hiperplasia**	Leve	<1/10campo	Nula	

*Parcialmente atrófica

**Hiperplasia a expensas de fasciculadas y reticular

Pleomor. = Pleomorfismo

*d=Peso en gramos de la glándula suprarrenal derecha.

*i=Peso en gramos de la glándula suprarrenal izquierda.

Microscópicamente el pleomorfismo fue leve en el 90% de los casos y nulo en el 10% restante. El índice mitótico fue de 0/10 campo con el objetivo de 500 aumentos en el 30% de

extirpadas; siendo <1 en 10 campos en el 30% de los casos y mayor de dicha proporción en el 20% restante. Un 30% de feocromocitomas MEN presentaron invasión vascular al mismo tiempo que metástasis en los ganglios locorregionales.

La corteza adyacente al tumor apareció atrófica en el 85% de los casos e hiperplásica en el 15% restante, siempre a expensas de las capas fasciculada y reticular. No se ha observado ningún caso de hiperplasia medular adrenal. El patrón angiomatoide fue llamativo en un caso (caso nº 5).

Al microscopio electrónico fue frecuente observar abundantes gránulos neurosecretorios citoplasmáticos en todos los casos estudiados.

3) Valoración inmunohistoquímica de los feocromocitomas familiares MEN.

Los resultados obtenidos mediante el estudio inmunohistoquímico en los feocromocitomas familiares MEN están reflejados en la Tabla 8.

Tabla 8. Análisis inmunohistoquímico de los feocromocitomas familiares MEN.

Caso	Sinap.	Cromo	Somat.	HMB-45	Calciton.	ACTH	VIP	NSE
1	+++	++	-	-	-	+	-	+
2	+	++	-	-	+	+	-	++
3	++	+	-	-	+	+	-	+
4	++	+	-	-	-	-	+	+
5	++	+	-	-	-	-	-	++
6	+++	+	-	-	+	+	-	+
7	+++	+	-	-	-	-	-	-
Global	100%	100%	0%	0%	42,8%	57,1%	14%	85%

+ débilmente positiva

++ moderadamente positiva

+++ fuertemente positiva

Sinap. = Sinaptofisina

Somat. = Somatostatina

VIP = Péptido Instetinal Vasoactivo

ENE = Enolasa específica neuronal.

MEN = Neoplasias Endocrinas Múltiples.

Cromo = Cromogranina

Calciton = Calcitonina

Como podemos ver en la tabla 8 la inmunorreactividad de los feocromocitomas MEN frente a la sinaptofisina y la cromogranina fue del 100%. El patrón de tinción observado con mayor frecuencia para la sinaptofisina es el homogéneo (+++), fuertemente positivo en toda la estructura tumoral (Fig. 1). En el caso de la cromogranina el patrón de tinción ha sido homogéneo (++) moderadamente positivo. y con patrón granular citoplasmático (Fig. 4)

La somatostatina fue negativa en todos los casos (Tabla 8).

La inmunotinción frente a la calcitonina estaba presente en el 42% de los casos, siendo el patrón más frecuentemente observado el homogéneo.

La ACTH estaba presente en el 50% de los feocromocitomas. El patrón tisular más frecuente fue el homogéneo (++) moderadamente positivo en toda la zona tumoral (Fig.6)

debilmente positivos (Tabla 9). Además un 50% de los casos presentaron una intensa inmunotinción en la corteza adyacente.

Se encontró la enolasa neuronal específica en el 85% de las neoplasias en células dispersas moderadamente positivas.

Respecto a la corteza suprarrenal adyacente existió una reacción positiva en la zona reticular generalmente en todos los casos donde la médula fue positiva a la sinaptofisina y a la ACTH (Fig. 7)

C. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES NO MEN.

a) Valoración clínica de los feocromocitomas familiares no MEN.

Se han recogido 4 casos de feocromocitomas que han sido encuadrados en síndromes familiares no MEN. Tres de ellos formaron parte de la enfermedad de von Recklinghausen. Esta entidad cursa con nevus (manchas color café con leche); fibromas cutáneos; neurofibromas (en el acústico, raíces dorsales, plexo celíaco) y lesiones óseas (Tabla 10). El cuarto caso se asoció a la enfermedad de von Hippel-Lindau consistente en angiomatosis retinocerebelosa de herencia familiar recesiva.

En cuanto a la edad todos los casos se presentaron por debajo de los 40 años en el momento del diagnóstico, de los cuales dos de ellos se manifestaron en el tercer decenio de la vida (26 y 29 años respectivamente) y uno de ellos a los 14 años (Tabla 10).

Referente al sexo dos casos se describieron en varones y dos en mujeres.(Tabla 10)

Es bastante constante en los datos clínicos los registros tensionales de 190/120 con crisis hipertensivas que llegaron a 210/130 (Tabla 10). Estas crisis coinciden con aumento de la

liberación en orina de aminas biógenas tales como la adrenalina, noradrenalina y dopamina (Tabla 9). Tras la extirpación quirúrgica estas cifras de catecolaminas volvieron a los rangos normales.

Tabla 9. Niveles de aminas biógenas urinarias en los pacientes con Feocromocitomas familiares no MEN.

Caso	A. (ngr./ml)	N.A. (nrg/ml)	AHV (ngr/ml)	VAMA (ngr/ml)	5HIA (ngr/ml)	D.A. (ngr/ml)
V.P.	0'379	1'19	15'05	33'36	4'55	2'315

A=Adrenalina. Los valores normales son de 0,200 ngr/ml.

NA=Noradrenalina. Los valores normales de noradrenalina son 0,638 ngr/ml

AHV=Ácido Homovalínico. Los valores normales son de 6'5 ngr/ml.

VAMA= Ácido vanidilmandélico. Los valores normales son 12'5 ngr/ml.

5HIA=5 Hidroxi-indolacético.

DA=Dopamina.

VP=Valor promedio encontrado en los pacientes.

Consecuencia directa de las crisis hipertensivas fue la presencia de retinopatía hipertensiva en todos los casos estudiados, que han llegado hasta un grado IV en el caso 4. Del mismo modo, se han constatado neurofibromas en los tres casos de enfermedad de von Recklinghausen (Tabla 10)

Entre las alteraciones analíticas se ha constatado hiperglucemia en uno de los casos.

Tabla 10. Variables clínicas en los feocromocitomas familiares tipo no MEN.

Caso	Edad	Sexo	Tensión arterial mm/Hg	Aminas biógenas en orina	Signos y síntomas clínicos
1	14	V.	170/115	Aumento de NA, DA, VAMA y AHV	Von Hippel-Lindau
2	26	M.	**	Aumento de NA, DA, A y VAMA	Recklinghausen
3	39	M.	190/120	Aumento de NA, A, VAMA y DA	Miocardopatía hipertensiva
4	29	V.	210/130	Aumento de A y NA	Retinopatía hipertensiva Enfermedad de Von Recklinghausen

A=Adrenalina. NA=Noradrenalina.

V=Varón

VAMA=Ácido vanililmandélico. DA=Dopamina

M=Mujer

AHV=Ácido Homovalínico

**=Crisis hipertensiva.

2) Estudio morfológico.

El peso de las piezas tumorales osciló entre 120 y 650 gramos.

La localización preferente fue la suprarrenal derecha.

Los tumores tenían forma ovoide, coloración grisácea y/o amarillentas advirtiéndose áreas de necrosis y hemorragia.

Tabla 11. Datos morfológicos observados en los feocromocitomas familiares no MEN

Caso	Corteza	Pleomorfismo	Índice mitótico	Invasión vascular	Observaciones
1	Hiperplasia	Discreto	<1/10campo	—	Capsula evidente
2	No evidente	Ligero	0/10 campo	—	Cápsula evidente
3	Atrofia*	Moderado	<1/10 campo	—	Cápsula evidente
4	Atrofia	No evidente	1/10 campo	—	Cápsula evidente

*Atrofia parcial por zonas.

Los datos morfológicos más relevantes en relación con el pronóstico de estos tumores son el pleomorfismo, índice de mitosis, invasión vascular, estado de la corteza y presencia de cápsula (tabla 11).

El estudio ultraestructural ha permitido demostrar numerosos gránulos citoplasmáticos de carácter neurosecretor en todos los casos analizados.

C) Análisis inmunohistoquímico de los feocromocitomas familiares no MEN.

La tabla 12 recoge los datos inmunohistoquímicos obtenidos en los cuatro feocromocitomas familiares no MEN estudiados.

Tabla 12:

Caso	Sinapt.	Cromo	Somat	HMB-45	Calciton	ACTH	VIP	NSE
1	++	++	-	-	-	++	-	++
2	++	++	+	-	+	++	+	-
3	+++	++	-	-	-	-	-	++
4	++	++	-	-	-	-	-	++
Global	100%	100%	25%	0%	25%	75%	50%	75%

Sinapt. = Sinaptofisina

Cromo. = Cromogranina

Somat. = Somatostatina

Calciton. = Calcitonina

VIP = Péptido instestinal vasoactivo

ENE = Enolasa específica neuronal.

+ *Debilmente positivo*

++ *Moderadamente positivo*

+++ *Fuertemente positivo*

inmunorreacción a la

Estos resultados muestran que la cromogranina y la sinaptofisina fueron positivos en el 100% de los casos. La sinaptofisina presentó un patrón homogéneo moderadamente positivo (++) en el 75% de ellos. La cromogranina presentó un patrón homogéneo moderadamente positivo en el 100% de las neoplasias con localización citoplasmática granular.

La somatostatina fue positiva en un 25% de los tumores; presentándose preferentemente en forma de grupos celulares aislados (+) rodeándose de zonas tumorales con inmunotinción negativa.

El HMB-45 no se demostró inmunohistoquímicamente en ningún caso. (Tabla 12).

La calcitonina se ha demostrado en un 25%, en grupos celulares (+) rodeados de

parénquima tumoral negativo.

La inmunotinción para la ACTH se presentó en el 75% de los casos. Paralelamente se observó una tinción positiva y homogénea en la corteza adyacente (Fig. 7).

El VIP se expresó en dos de los cuatro casos estudiados, con patrón homogéneos tanto débil (+) como moderadamente positivo (++)

La enolasa neuronal específica presentó inmunorreacción en tres de los cuatro casos. La tinción para la enolasa alterna entre patrones homogéneos moderadamente positivos (++) y otros fuertemente positivos (+++).

El último punto interesante de analizar es la comparación de los resultados inmunohistoquímicos entre los feocromocitoma esporádicos y los familiares MEN y no MEN (Gráfico 13).

Tabla 13. Análisis inmunohistoquímico comparativo entre feocromocitomas esporádicos y familiares MEN y no MEN.

	SINAP	CROM	SOM.	HMB-45	CALC.	ACTH	VIP	NSE
ESP.	100%	100%	8%	0%	34%	30%	53%	76%
F.MEN	100%	100%	0%	0%	42'8%	57%	14'2%	85%
F no MEN	100%	100%	25%	0%	25%	75%	50%	75%

SINA= Sinaptofisina

CROM= Cromogranina

SOM= Somatostatina

CALC= Calcitonina

NSE=Enolasa neuronal específica.

ESP= Feocromocitomas esporádicos.

F. MEN=Feocromocitomas asociado a neoplasia endocrina múltiple.

F.no MEN=Feocromocitomas familiares no MEN

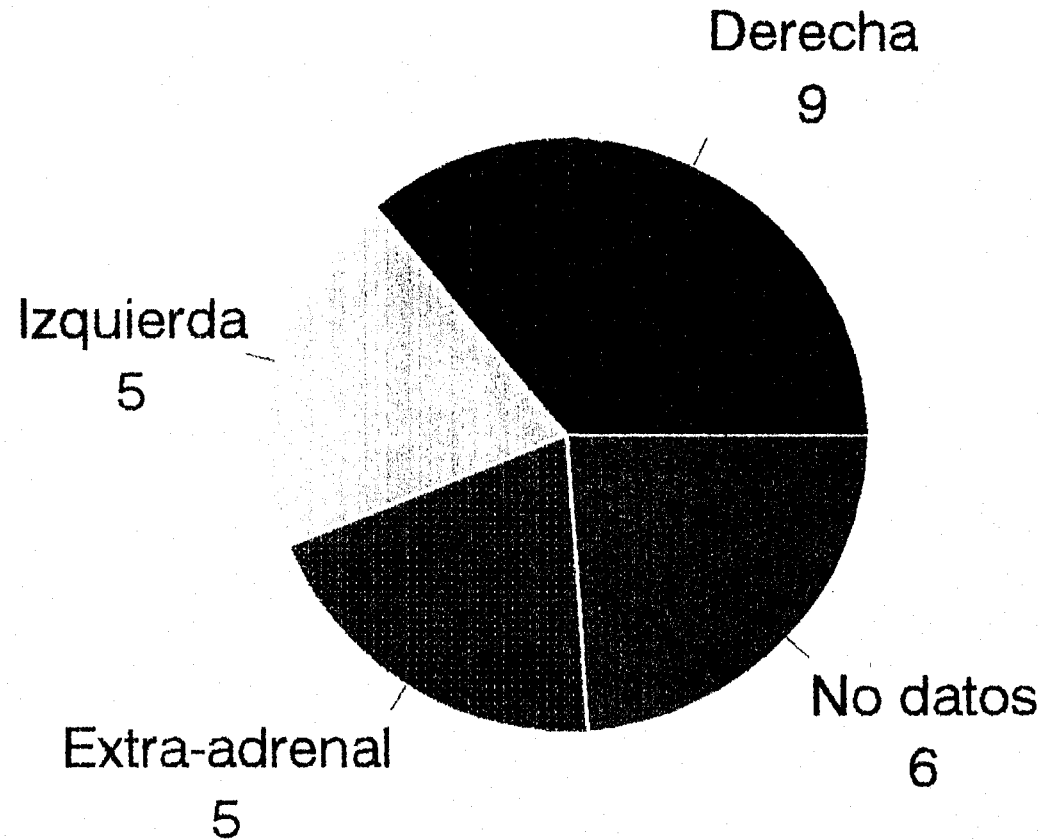
Destaca en el cuadro anterior la alta presencia de inmunorreactividad frente al VIP en los casos esporádicos frente a la baja inmunorreactividad en los casos familiares asociados a síndrome MEN. Del mismo modo presentan diferente proporción de inmunorreactividad frente a la somatostatina y a la ACTH.

GRÁFICOS

- Gráfico 1. Presentación en forma de diagrama de sectores de localizaciones en las que se ha encontrado los feocromocitomas esporádicos.
- Gráfico 2. Presentación en forma de diagrama de sectores de la distribución por edades de los feocromocitomas esporádicos.
- Gráfico 3. Representación gráfica en diagrama de barras de los niveles tensionales registrados en los feocromocitomas esporádicos.
- Gráfico 4. Representación en diagrama de barras de los resultados inmunohistoquímica de los feocromocitomas esporádicos.
- Gráfico 5. Representación en diagrama de sectores de la edad de pacientes afectados de feocromocitomas familiares MEN.
- Gráfico 6. Representación en diagrama de barras de los resultados inmunohistoquímicos de los feocromocitomas MEN.
- Gráfico 7. Representación en diagrama de barras de los resultados inmunohistoquímicos de los feocromocitomas familiares no MEN.
- Gráfico 8. Representación en diagrama de barras de los resultados inmunohistoquímicos a nivel comparativo de los feocromocitomas esporádicos, familiares MEN y familiares no MEN.

Feocromocitomas esporádicos

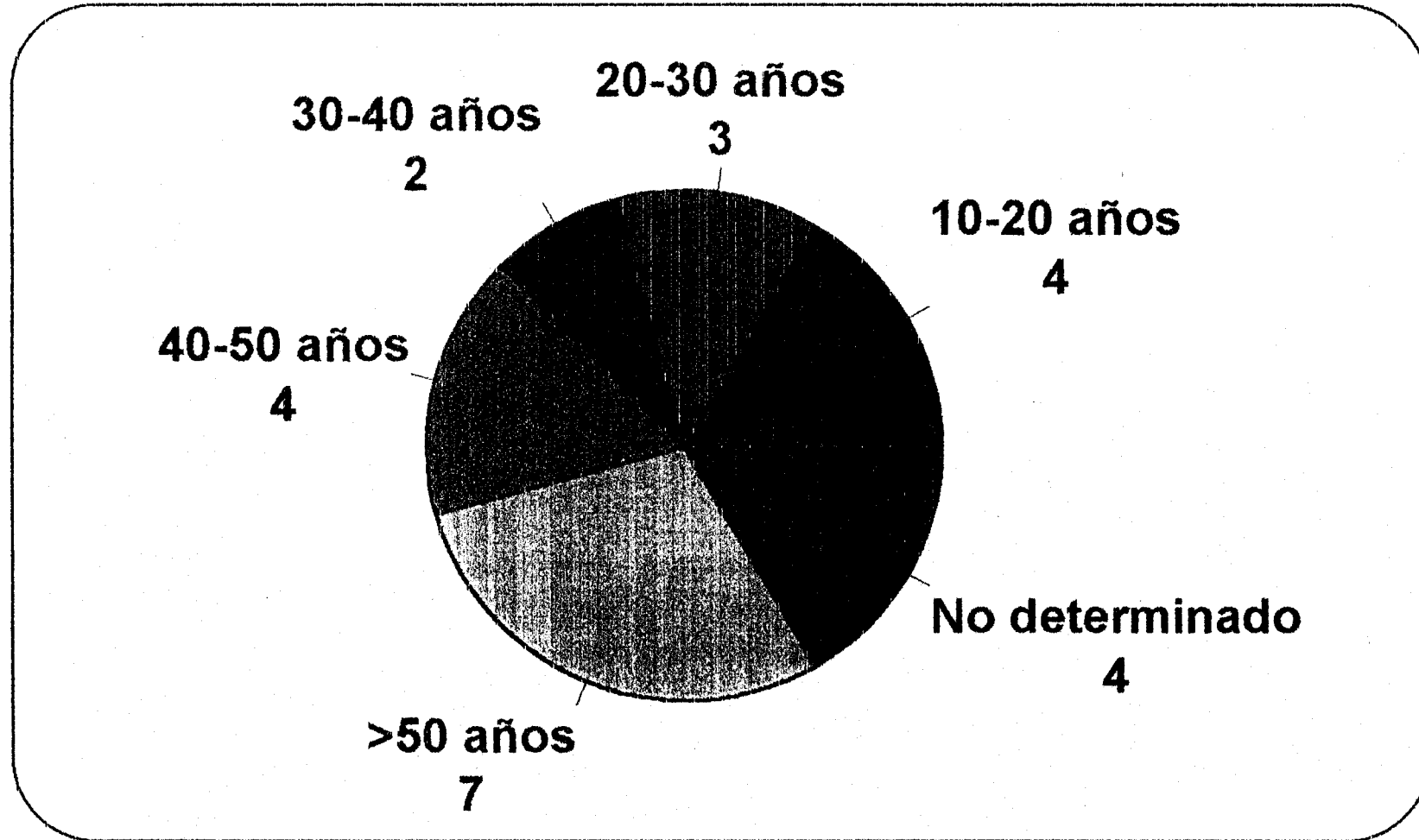
Localización



GRAFICA 1.- REPRESENTACION EN FORMA DE DIAGRAMA DE SECTORES DE LOCALIZACIONES EN LAS QUE SE HA ENCONTRADO LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS.

Feocromocitomas esporádicos

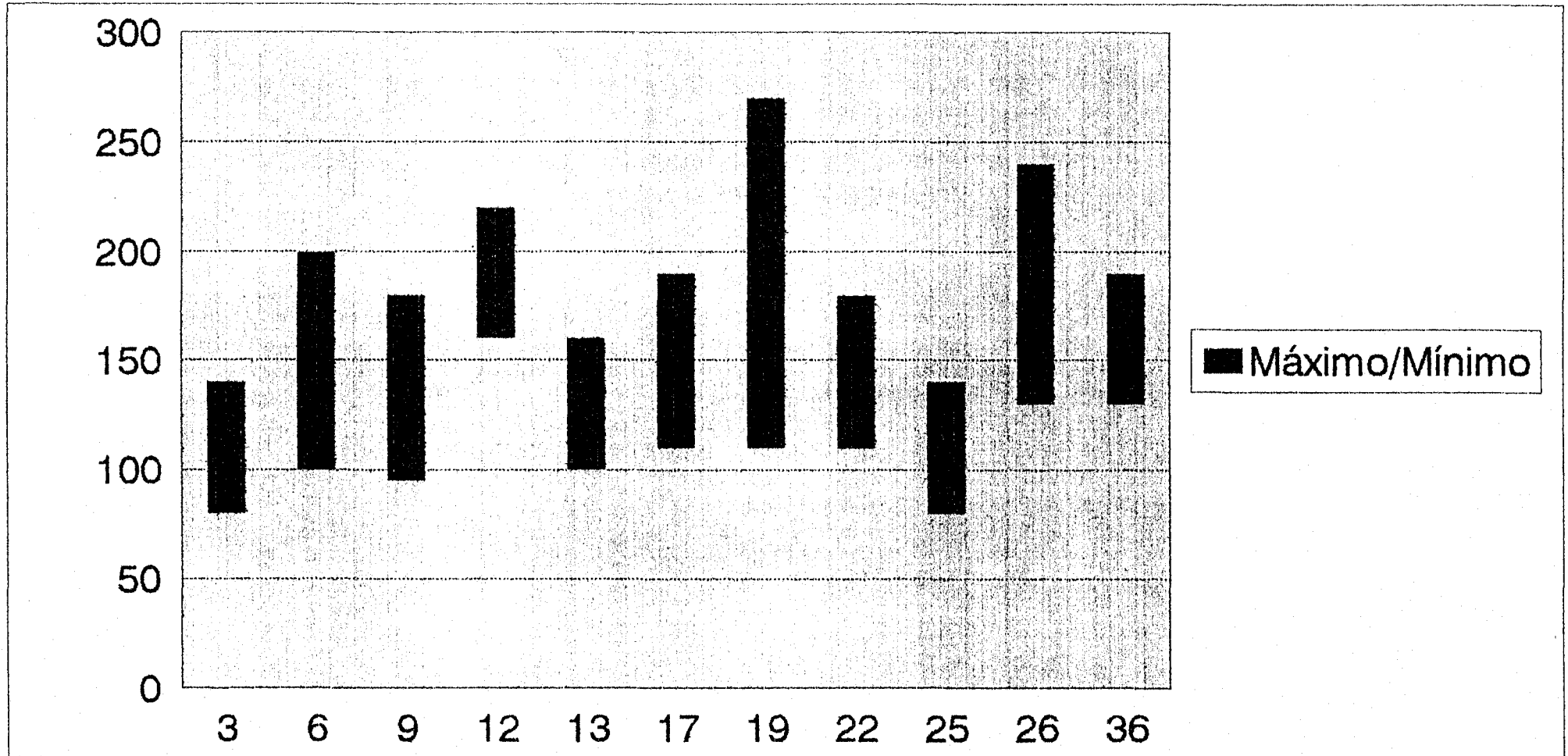
Distribución por edades



GRAFICA 2.- REPRESENTACION EN FORMA DE DIAGRAMA DE SECTORES DE LA DISTRIBUCION POR EDADES DE LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS.

Feocromocitomas esporádicos

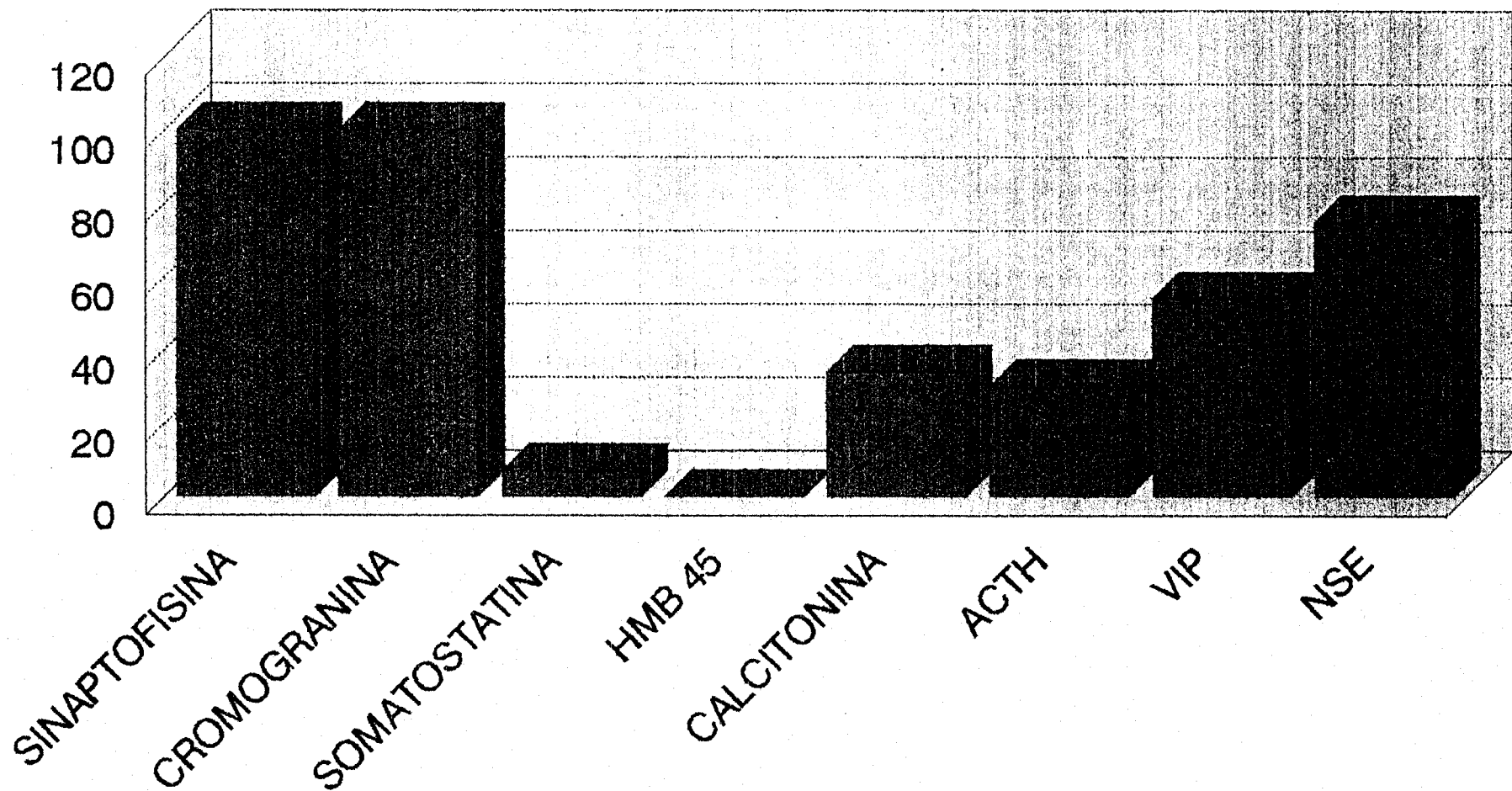
Niveles tensionales



GRAFICA 3.- REPRESENTACION GRAFICA EN DIAGRAMA DE BARRAS DE LOS NIVELES TENSIONALES REGISTRADOS EN LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS.

ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

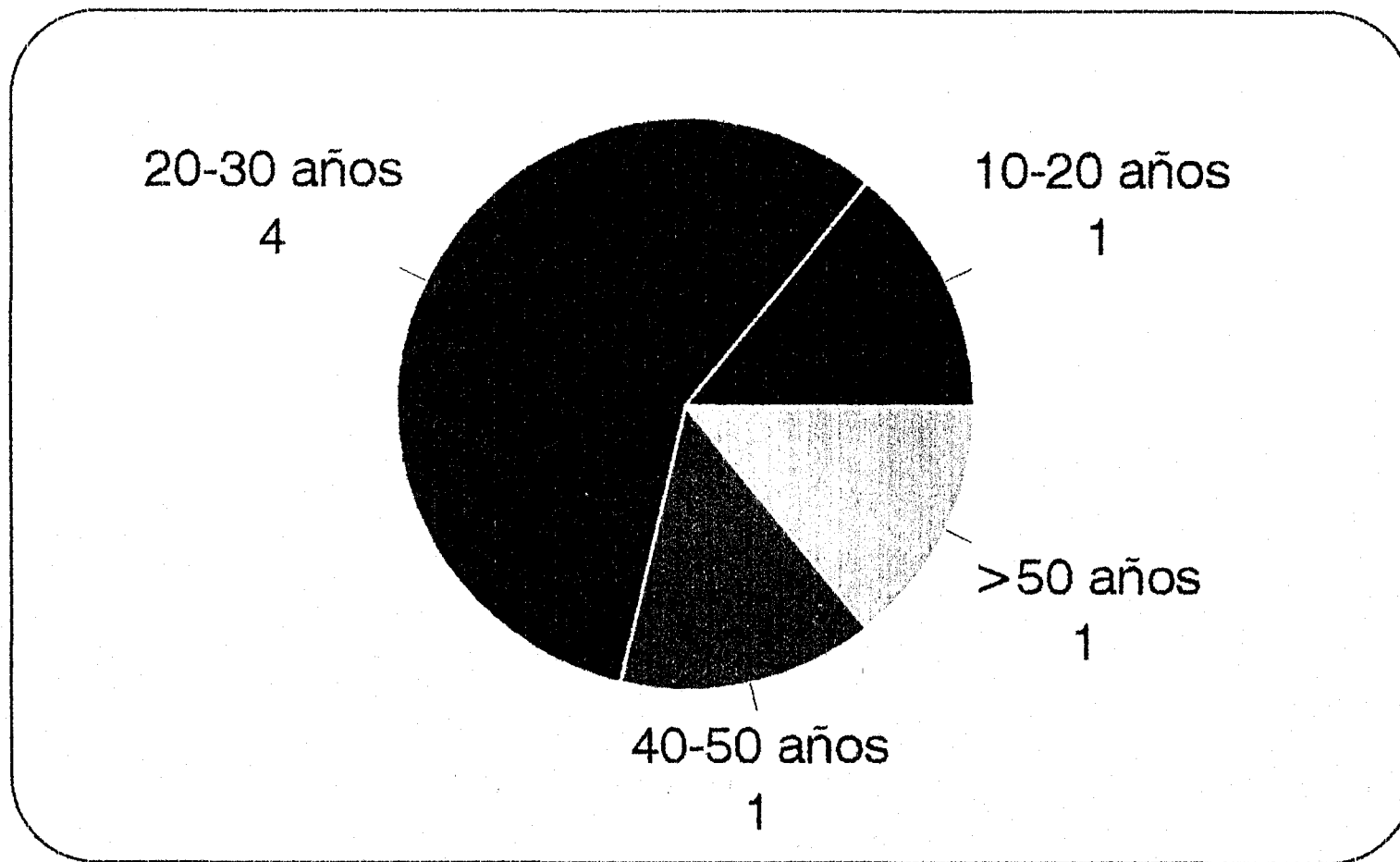
FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS



GRAFICA 4.- REPRESENTACION EN DIAGRAMAS DE BARRAS DE LOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUIMICOS DE LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS.

Feocromocitomas familiares MEN

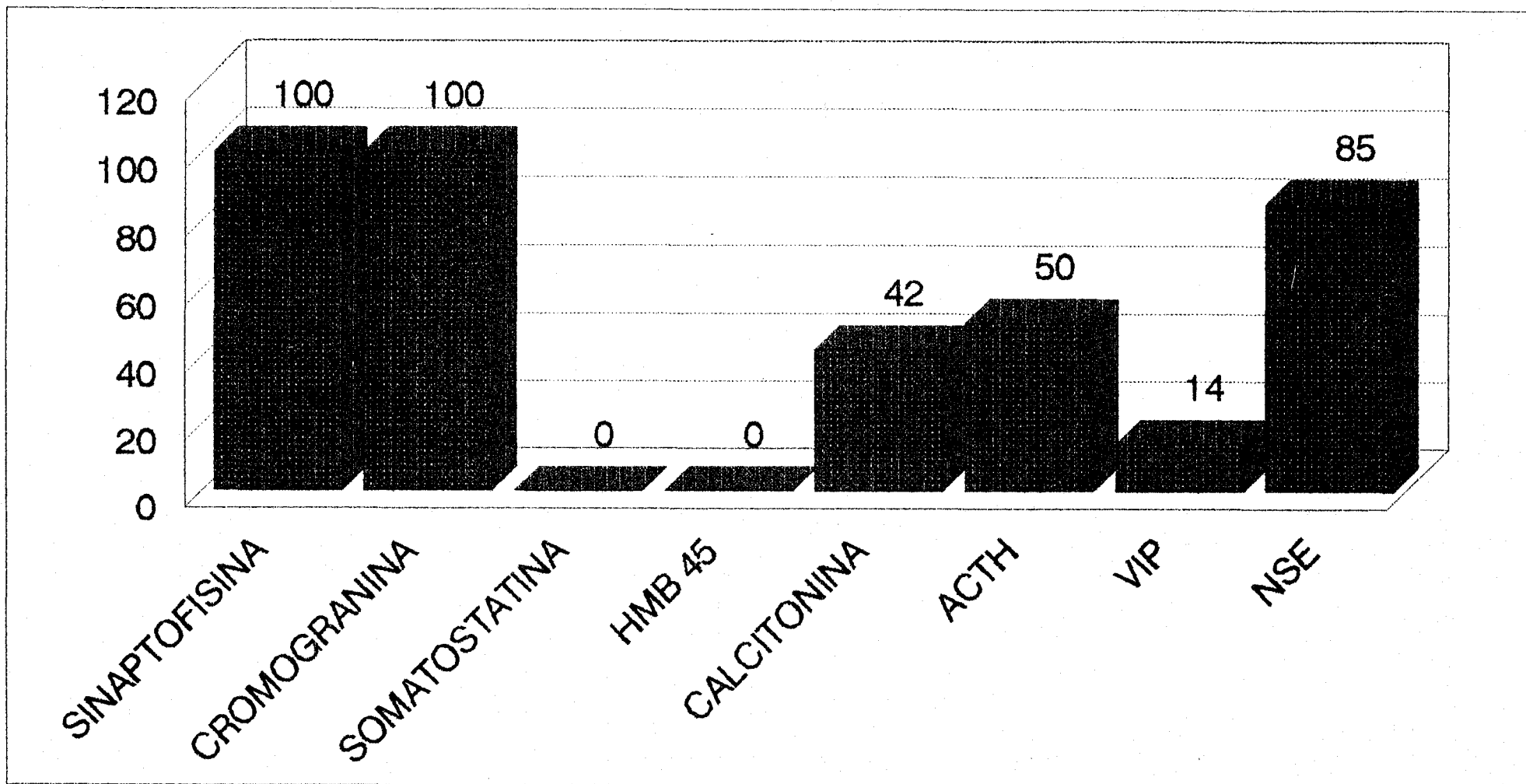
Edad



GRAFICA 5.- REPRESENTACION EN DIAGRAMA DE SECTORES DE LA EDAD DE PACIENTES AFECTOS DE FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES MEN.

ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

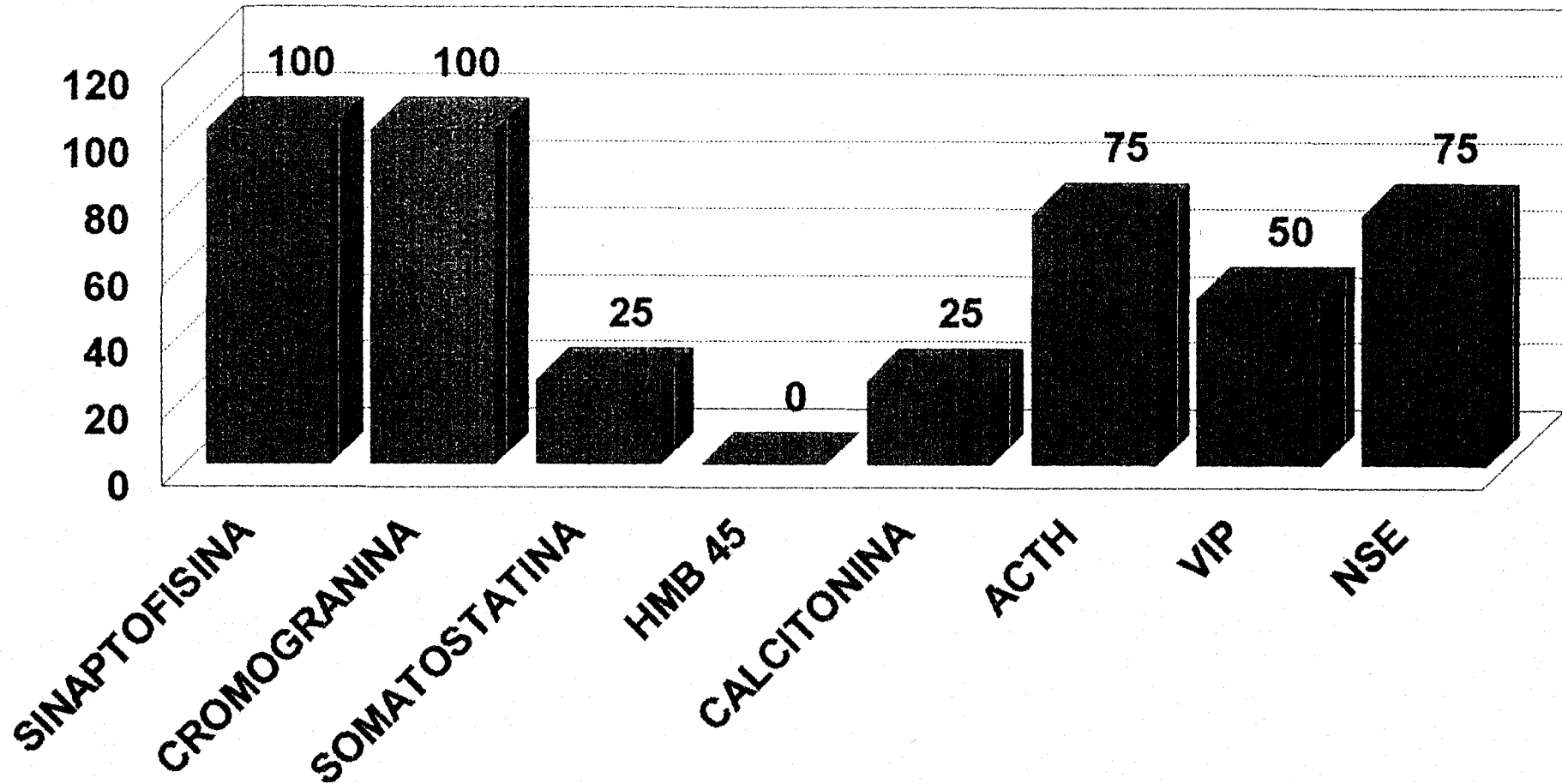
FEOCROMOCITOMAS MEN



GRAFICA 6.- REPRESENTACION EN DIAGRAMA DE BARRAS DE LOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUIMICOS DE LOS FEOCROMOCITOMAS MEN.

ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

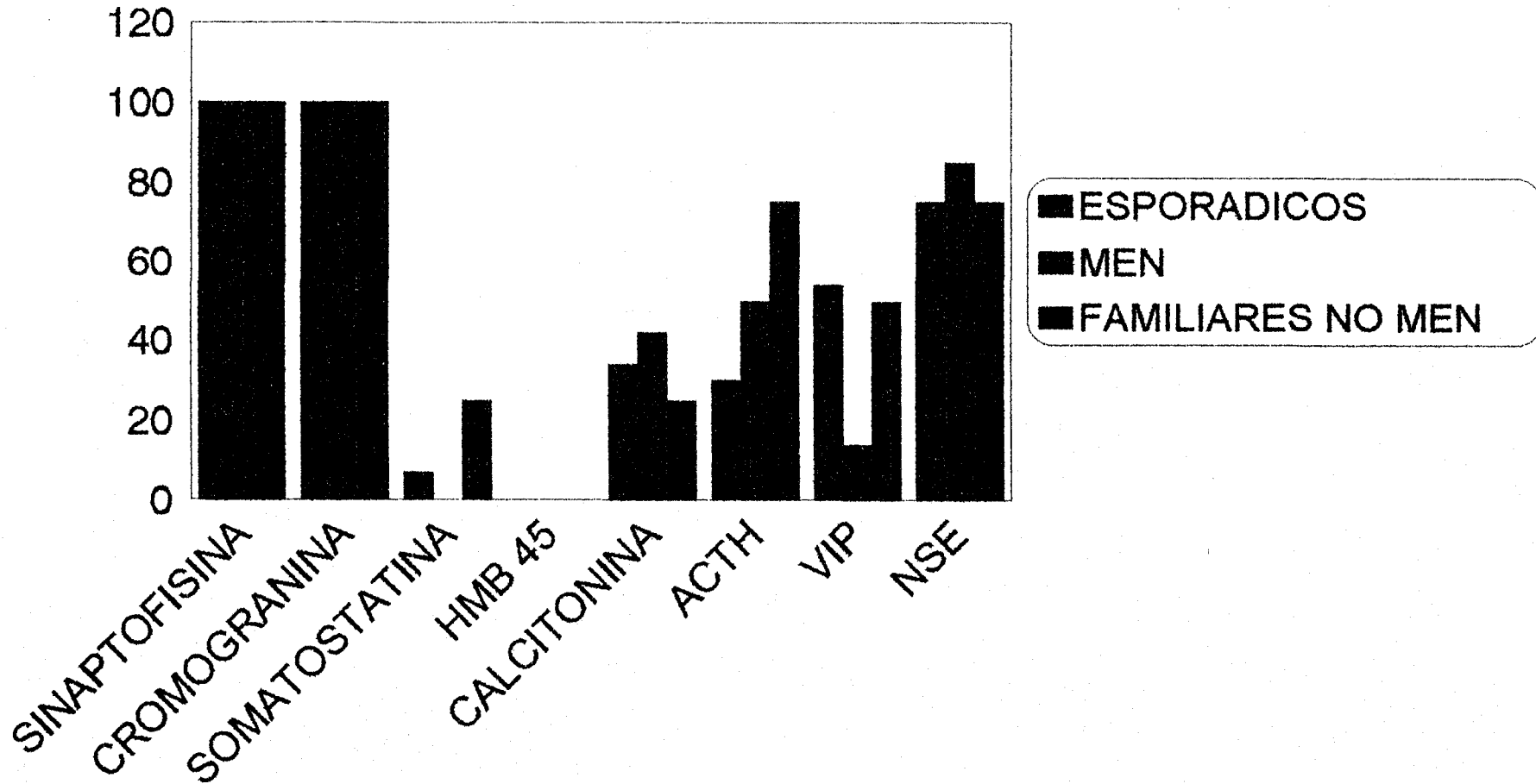
FAMILIARES NO MEN



GRAFICA 7.- REPRESENTACION EN DIAGRAMA DE BARRAS DE LOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUIMICOS DE LOS FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES NO MEN.

ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

ANALISIS COMPARATIVO



GRAFICA 8.- REPRESENTACION DE DIAGRAMA DE BARRAS DE LOS RESULTADOS INMUNOHISTOQUIMICOS A NIVEL COMPARATIVO DE LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORADICOS, FAMILIARES MEN Y FAMILIARES NO MEN.

Fig. 1. Feocromocitoma esporádico que presenta una clara inmunotinción positiva a la sinaptofisina con patrón homogéneo (X200).

Fig. 2. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva frente a la sinaptofisina en forma de grupos aislados (X100).

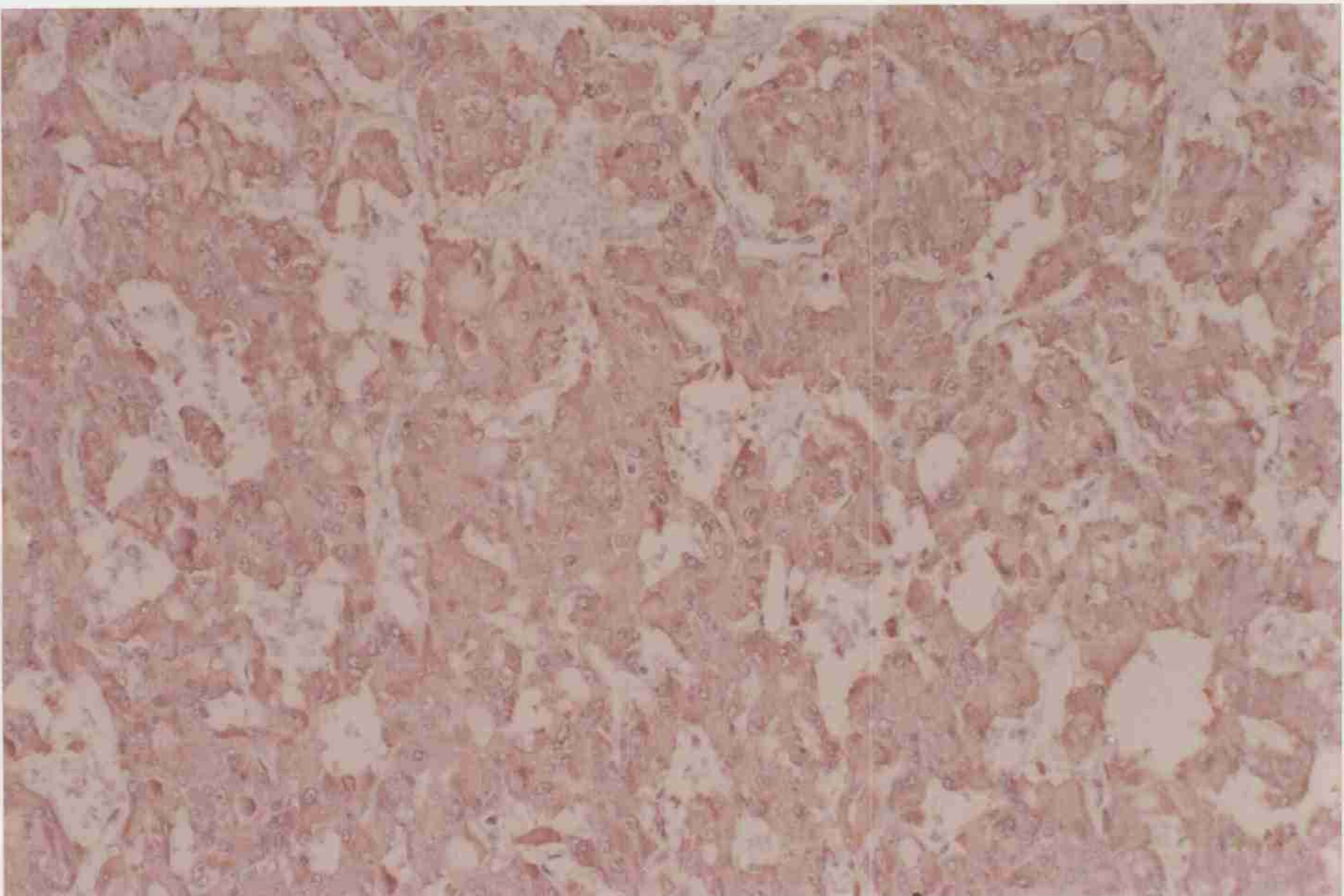
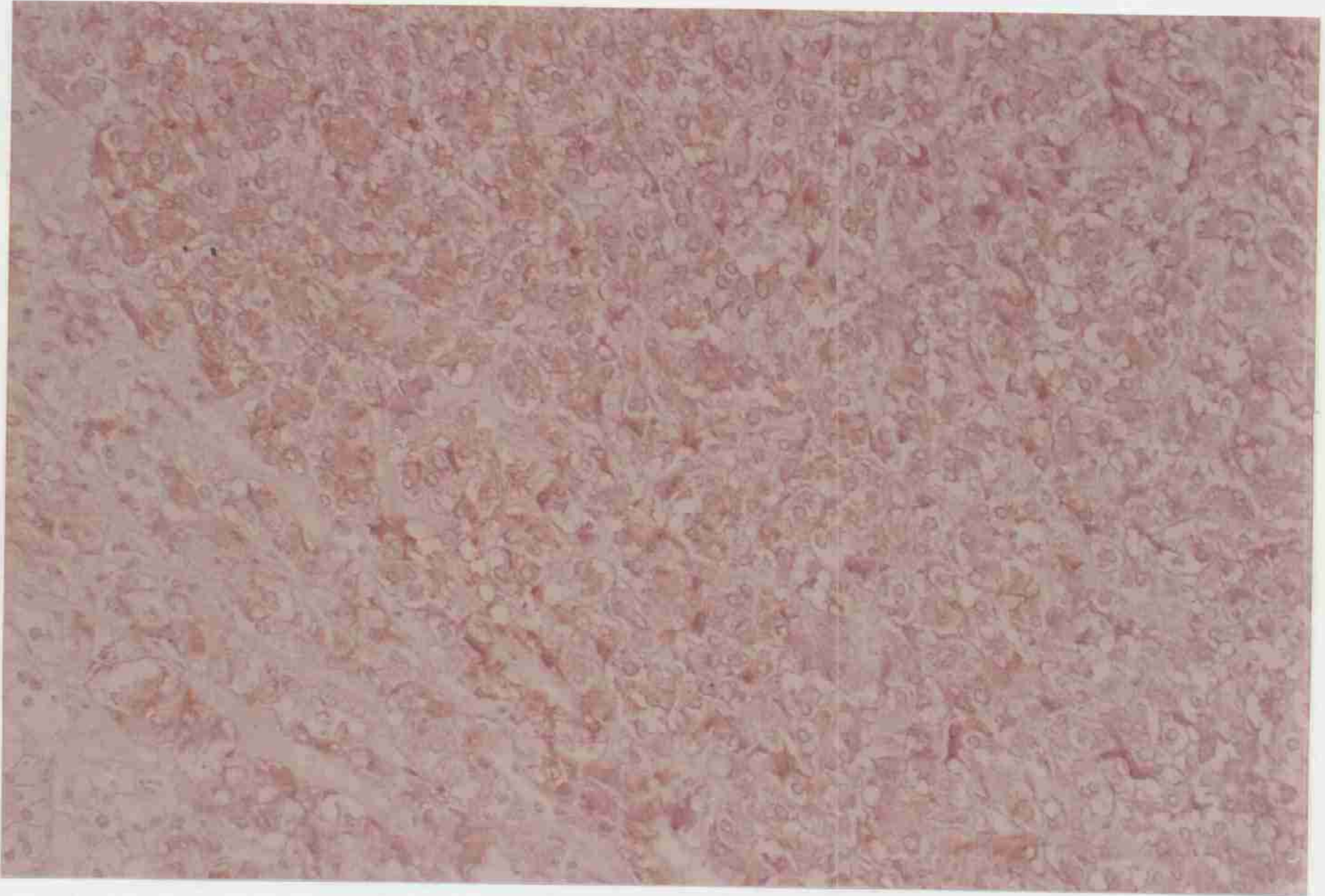


Fig 3. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva a la sinpatofisina en la zona interna de la corteza (X200).

Fig. 4. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva frente a la cromogranina con fuerte positividad de caracter granular afectando a todo el citoplasma. (X400).

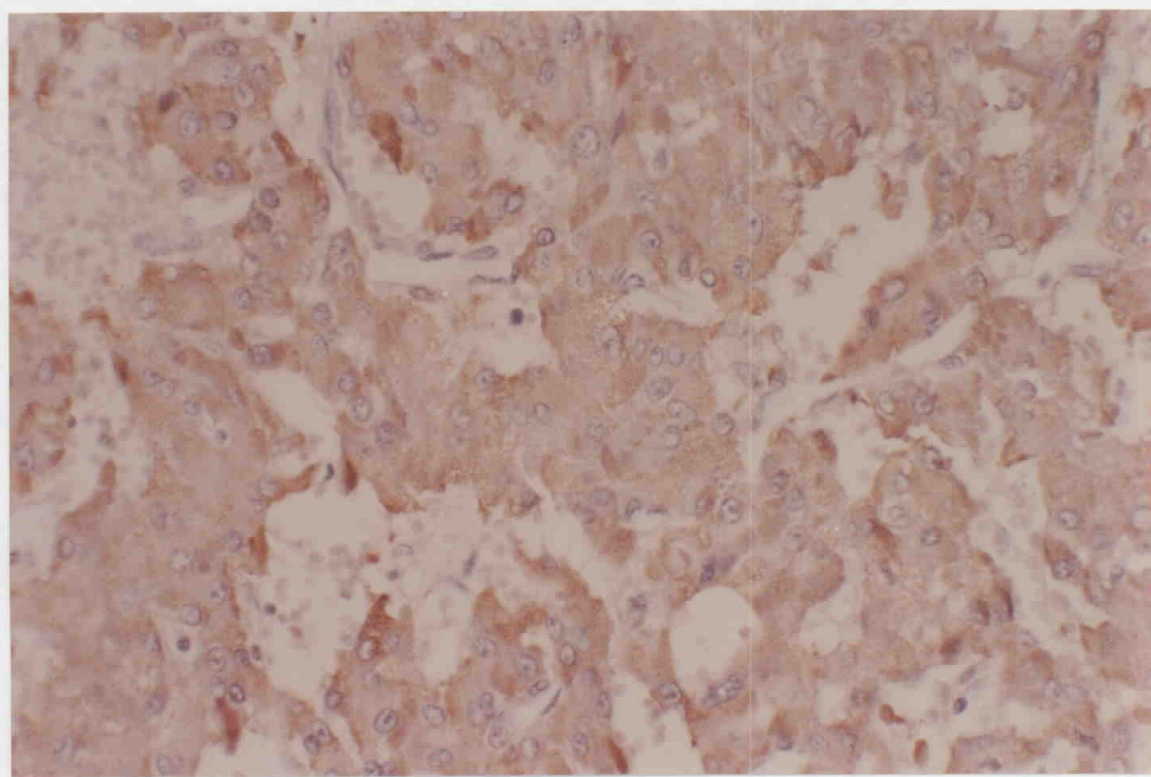
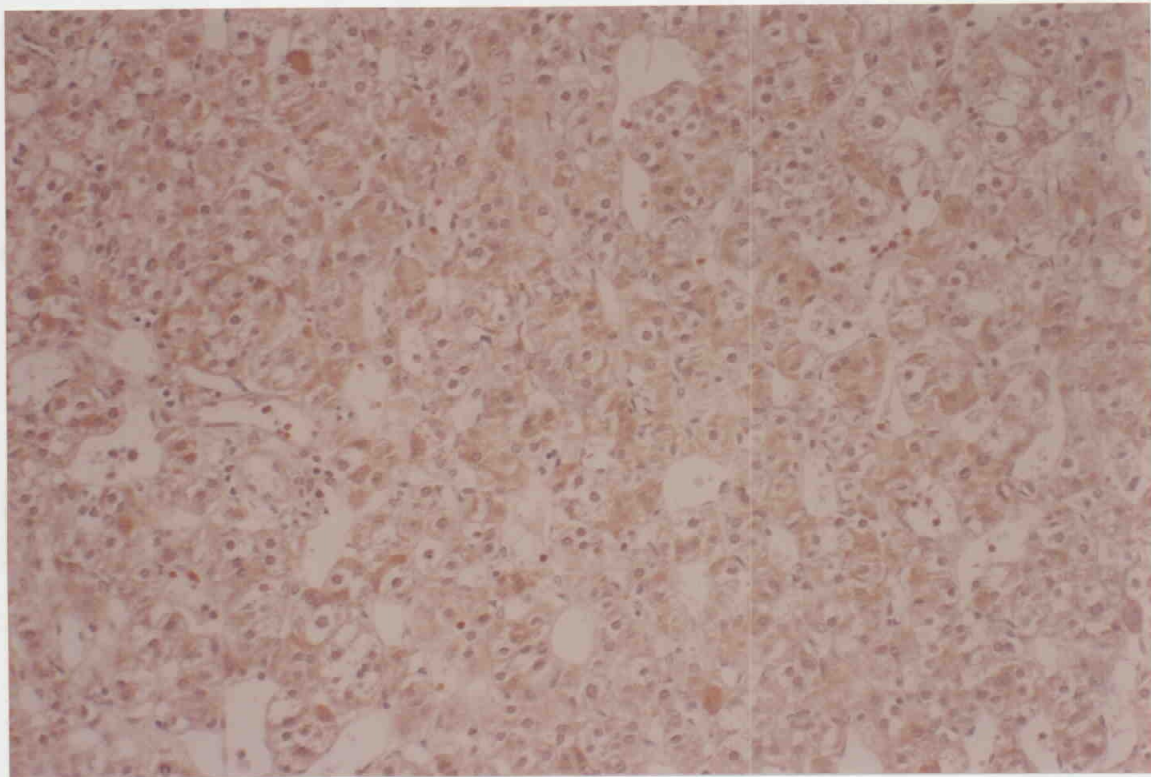


Fig. 5. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva para la calcitonina en grupos celulares de moderada positividad (X200).

Fig. 6. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva para la ACTH, mostrando un patrón homogéneo que afecta a todo el tumor (X400).

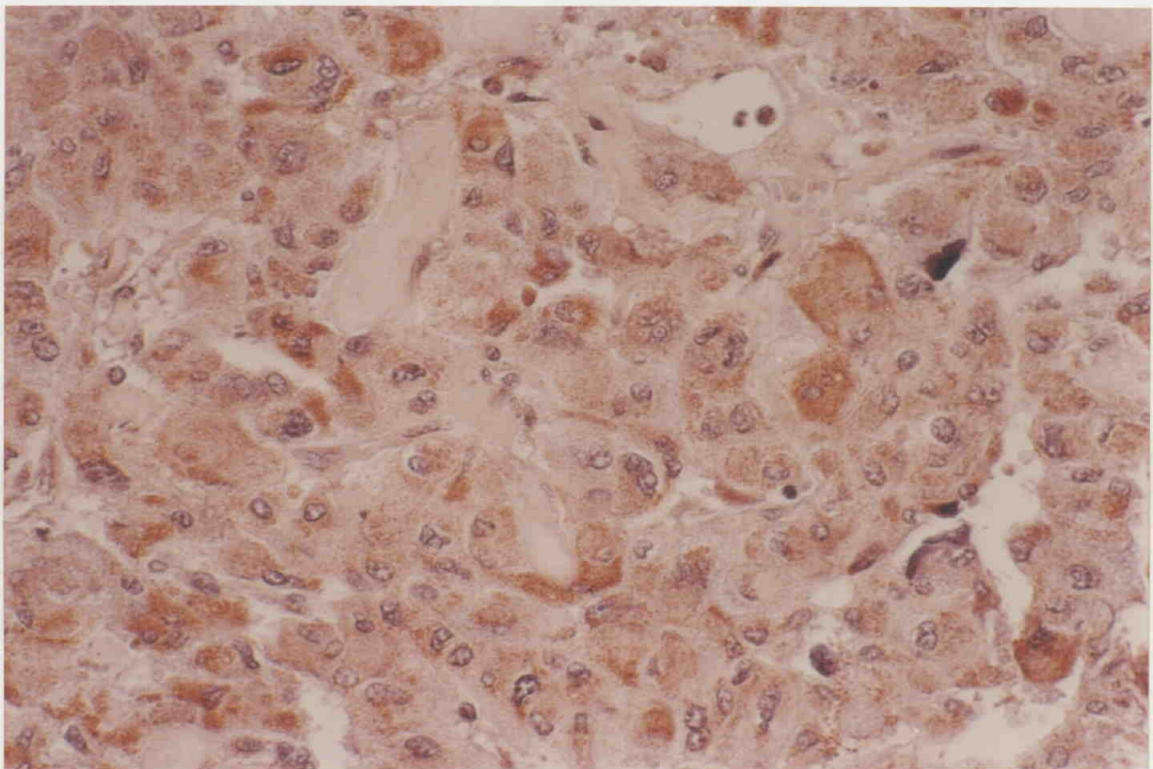
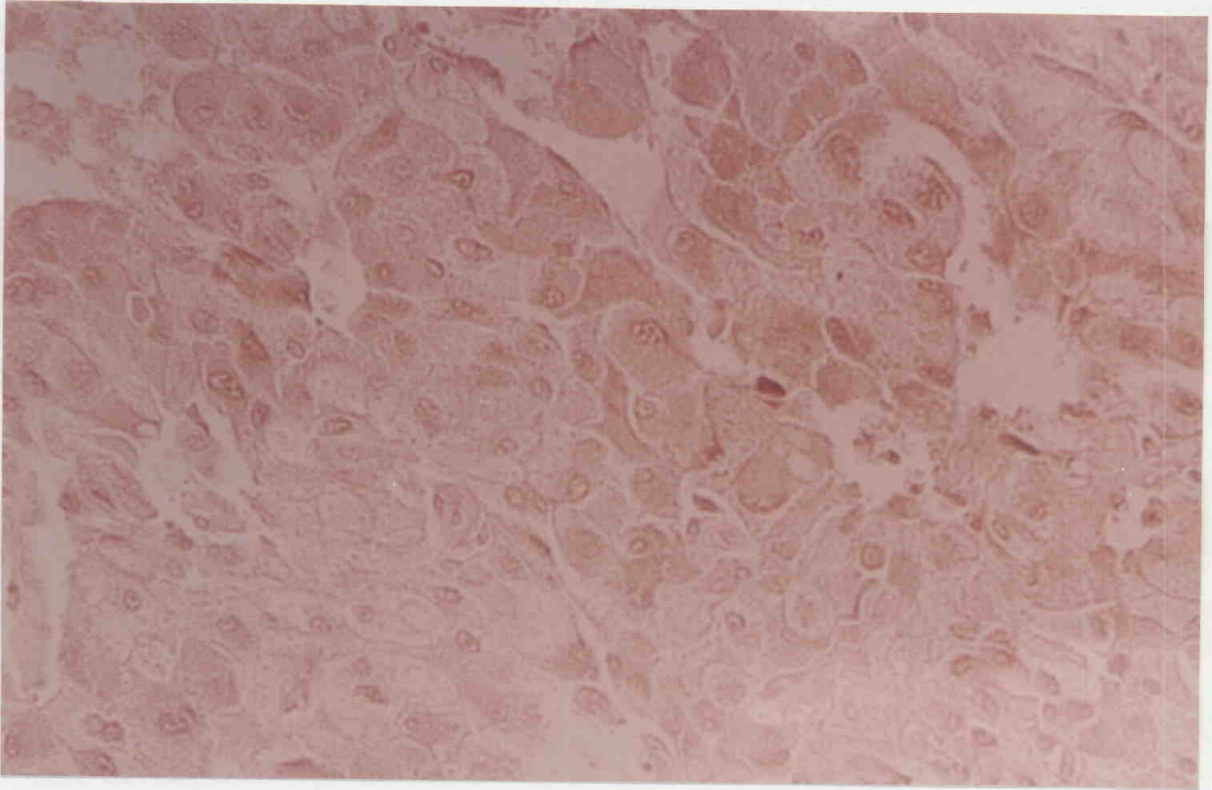
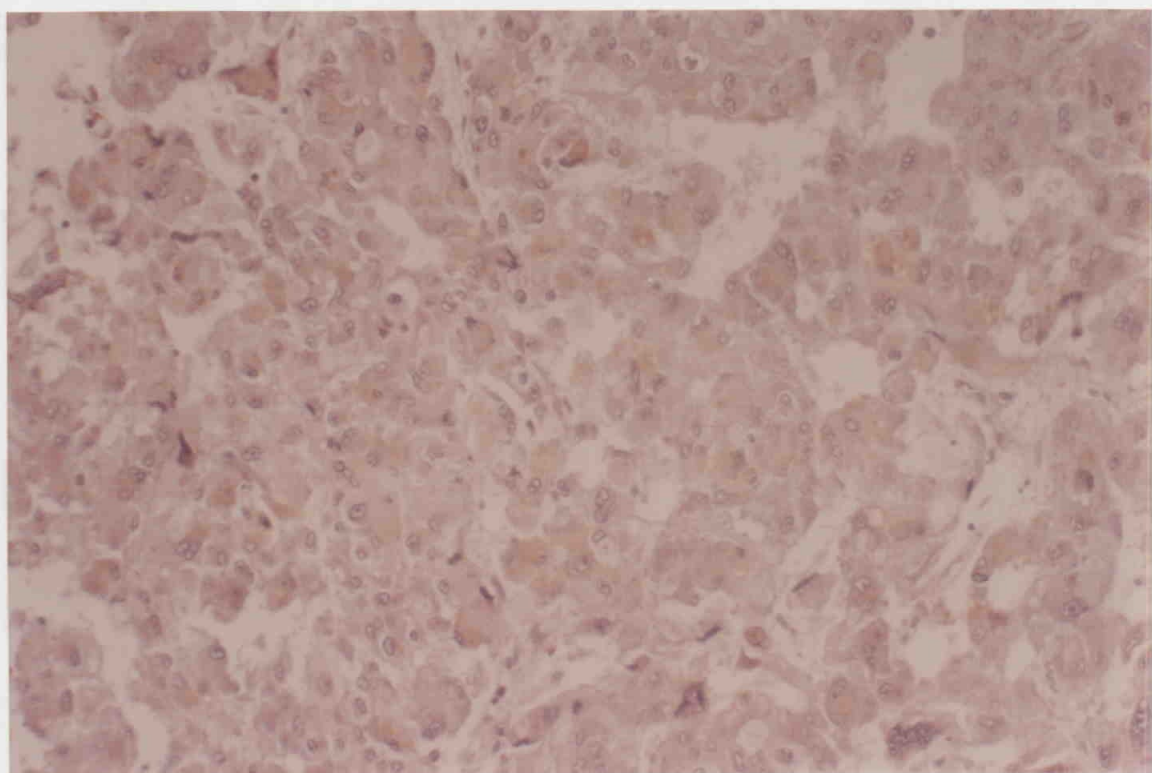
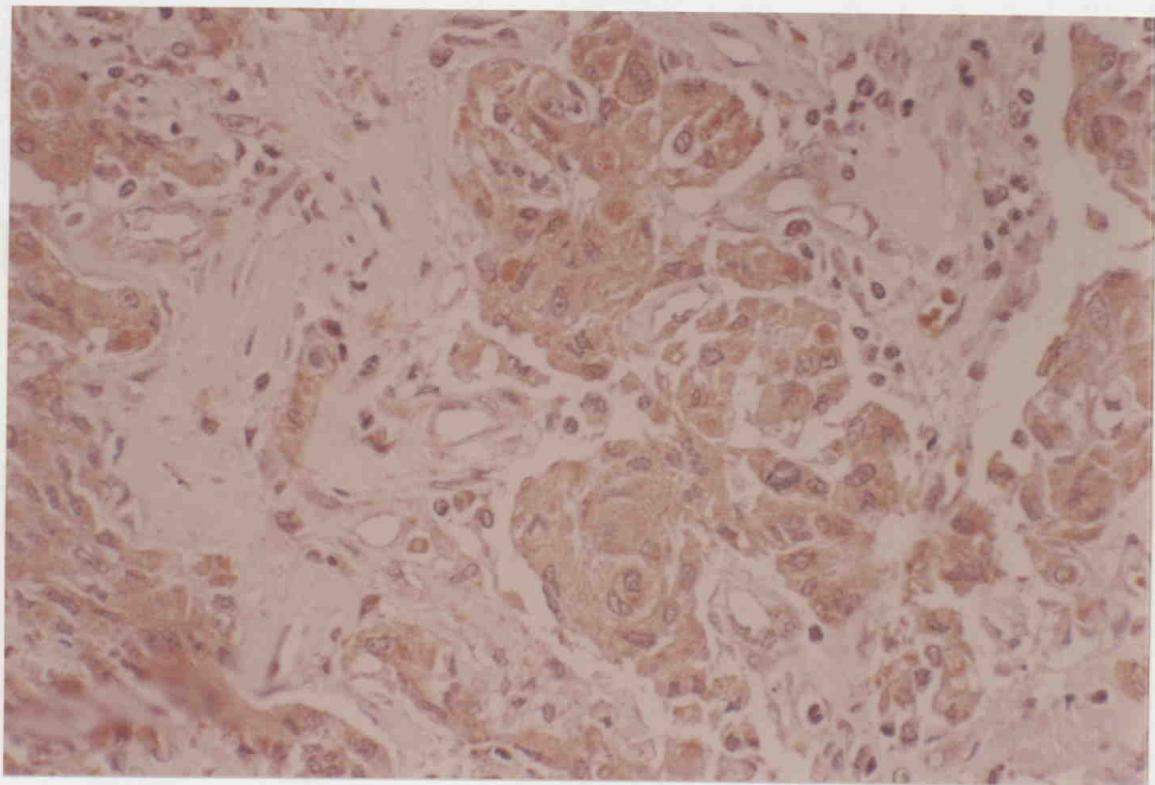


Fig. 7. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva frente a la ACTH en la corteza en la zona interna de la misma (x400).

Fig. 8. Feocromocitoma que presenta inmunotinción positiva frente a la enolasa neuronal específica en forma de patrón homogéneamente positiva en todo el tumor. (X200).



V. DISCUSIÓN.

A.FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS.

A.1. VARIABLES CLÍNICAS.

En nuestros resultados hemos recopilado los datos clínicos más relevantes de los pacientes afectos de feocromocitoma tales como edad, sexo, niveles tensionales, formas de presentación clínica; así como posibles manifestaciones paraneoplásicas (hipercalcemia, hiperglucemia, litiasis biliar etc.).

Según la literatura consultada, la edad de los pacientes estudiados osciló entre los 10 y los 78 años, con una media de 45 años siendo en nuestros enfermos en torno en los 40'7 años, por lo que no contradice de manera importante los datos encontrados por Glenner y cols (47). Por otro lado, se han estudiado dos pacientes varones en edad pediátrica lo que apoya la proporción 2:1 a favor de este sexo descrita por Strackpole en los feocromocitomas en edad infantil (159). Esta patología pediátrica presenta hipertensión sostenida en el 90% de los niños (104) lo cual se constató en uno de ellos. Un niño debutó clínicamente con convulsiones tónico-clónicas debidas a la encefalopatía hipertensiva que padecía, siendo ésta una forma de presentación poco frecuente (109). Estos casos en la infancia representan el 10% de todos los feocromocitomas según Stackpole (159), demostrándose en nuestro trabajo una proporción similar a la reflejada en la literatura.

Referente al sexo el 55% se dieron en mujeres observándose igual proporción en varones por lo que no contradice con los datos encontrados en los adultos por Robin (137).

Se ha descrito en nuestros pacientes un aumento de las aminas biógenas en orina con un aumento de la noradrenalina urinaria en los enfermos con feocromocitomas esporádicos

(25).

Con respecto a la tensión arterial, en nuestros resultados quedan reflejados diez casos con crisis paroxísticas hipertensivas y doce con hipertensión sostenida, lo que representa el 40% y el 60% respectivamente de los pacientes estudiados coincidiendo con lo publicado por otros autores (138). Del mismo modo, se han demostrado complicaciones de la hipertensión tales como retinopatía hipertensiva y miocardiopatía los cuales son datos clínicos que han sido publicados previamente (85). Esta miocardiopatía catecolaminica la han presentado dos pacientes de la serie (175).

Se ha recogido un caso de feocromocitoma asociado a hipercalcemia lo cual es frecuente en las Neoplasias Endocrinas Múltiples (MEN IIb). Dicho caso se clasificó como esporádico (caso 21) al no demostrarse en el seguimiento clínico del paciente la presencia de un cáncer medular de tiroides. Otra posibilidad que explica la hipercalcemia puede ser el efecto de las catecolaminas sobre las glándulas paratiroides (47). Ésta ha sido descrita y estudiada en la literatura por numerosos autores (162), (154), (64), (179), (153), (46) siendo explicada como una excesiva producción de PTH-like (162), (154), (64) o como consecuencia de la producción de calcitonina (64) (179).

El feocromocitoma presenta reconocida asociación con la litiasis biliar (140). En nuestra serie, se ha referido en dos pacientes pensándose, como posible explicación de esta patología, el efecto de la somatostatina como inhibidor de la motilidad del árbol biliar y por tanto favorecedor de la litogénesis biliar. Por otro lado, se ha observado que la somatostatina (124) muestra un papel inhibidor de la secreción de colecistoquinina que es muy activa en la motilidad de la vesícula y en la secreción de bilis. La demostración inmunohistoquímica de somatostatina

en los feocromocitomas esporádicos nos plantea el interrogante sobre una relación real entre los casos somatostatina (+) y los casos que clínicamente presentan litiasis biliar ya que en nuestra serie los casos con litiasis biliar fueron somatostatina (-).

Hay varios pacientes en nuestra serie con obesidad moderada, de hasta 114 kilogramos, sin que se especifiquen rasgos cushingoides en la historia clínica, por lo cual deja la posibilidad de que fueran síndromes de Cushing paraneoplásicos que no han podido ser verificados al no realizarse una medición de niveles de cortisol en plasma.

Asímismo se han registrado niveles elevados de glucemia en los pacientes estudiados, lo que corresponde al efecto de la adrenalina sobre el metabolismo de los hidratos de carbono (124). Según Glenner (47) más de la mitad de los pacientes presentan intolerancia a los hidratos de carbono por supresión de la secreción de insulina y estimulación de la producción hepática de glucosa. Esta intolerancia a la glucosa casi nunca exige tratamiento con insulina y suele desaparecer tras extirpar el tumor.

Se ha estudiado un caso con metástasis hepáticas y otro con metástasis ganglionares lo que constituye un comportamiento maligno por definición que en la serie de los esporádicos alcanza el 9%. En la literatura los porcentajes referidos de malignidad son del 7% (120), 8% (2); 11% (67) y un 14% (74). Además el porcentaje de malignidad parece ser mayor en los niños que en los adultos. No obstante, en los dos casos pediátricos estudiados no se constató la presencia de metástasis.

A.2. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS DE LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS.

Los datos anatomopatológicos de mayor interés en este estudio han sido: la localización de la neoplasia; el estado de la corteza suprarrenal, el peso, la existencia de cápsula aparente; el pleomorfismo nuclear y la presencia de invasión vascular.

En cuanto a la localización se han recogido diez casos en la glándula suprarrenal derecha, cinco casos en la glándula suprarrenal izquierda y cuatro casos extraadrenales. Ello supone una supremacía en la presentación unilateral de los casos esporádicos, tal como ha sido descrita previamente (25). Del mismo modo, se deja entrever un predominio de la suprarrenal derecha (60). Según Hume y cols (74) la incidencia de bilateralidad en los feocromocitomas en edad pediátrica del 24%. Este mismo autor apunta un predominio de presentación en la glándula suprarrenal derecha. Nuestros pacientes pediátricos no presentaron afectación bilateral aunque sí se demostró una tendencia a la localización en la suprarrenal derecha.

La corteza suprarrenal adyacente al tumor ha sido valorada en quince casos, observándose en nueve de ellos atrofia. Una explicación a ello podría ser que un crecimiento tumoral coalescente a la corteza provocaría una degeneración de la misma hasta atrofiarla. Por otro lado, la hiperplasia a expensas principalmente de la zona fasciculada y reticular constituye otro de los datos descritos en la corteza suprarrenal adyacente al feocromocitoma, lo cual ha sido constatado en nuestro trabajo en sólo dos casos. Aquí cabría barajar la posibilidad de la existencia de factores ACTH o ACTH-like secretados por el tumor que estimularía el crecimiento de la misma (158).

En relación con el peso del tumor se han descrito amplias variaciones sin demostrarse

un comportamiento especialmente maligno o metastásicos en los de mayor peso tumoral (164).

Los índices mitóticos han sido muy bajos en los tumores cromafines esporádicos, incluyéndose aquellos de comportamiento maligno.

La invasión vascular se comprobó anatomopatológicamente en un paciente el cual no presentó metástasis a distancia en la evolución natural de la enfermedad.

Como hallazgo anatomopatológico se ha descrito en la literatura que el tumor cromafín benigno puede presentar considerable variación en el tamaño nuclear y forma, con numerosos núcleos hipercromáticos gigantes. Los feocromocitomas malignos, por otro lado, muestran un menor pleomorfismo nuclear (125). En nuestra serie, el pleomorfismo fue escaso como norma general sin que ello se correlacione con un comportamiento maligno.

Por otro lado, la invasión vascular o capsular, criterios de malignidad en muchas otras enfermedades o sistemas orgánicos, ocurren en ambos feocromocitomas, benignos o malignos, y por ello no pueden ser utilizados para asegurar su potencial maligno (160).

A.3. CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS DE LOS FEOCROMOCITOMAS ESPORÁDICOS.

La sinaptofisina ha demostrado ser un marcador específico de la diferenciación neural y neuroendocrina (52), jugando un importante papel en los aspectos básicos de la neurotransmisión. Por ello, es más sensible para detectar diferenciación neuronal o neuroendocrina que la cromogranina y que la enolasa neuronal específica (34). Además se encuentra presente en una alta proporción tanto en feocromocitomas como en otros tumores de origen neural (181);(27). En nuestra serie la sinaptofisina presenta un alto porcentaje de

inmunorreactividad puesto que ha llegado al 100%, correlacionándose perfectamente con los datos revisados en la literatura (34). Aunque tiene el inconveniente de no ser específica para los feocromocitomas ha demostrado un patrón de presentación en el interior del parénquima tumoral y la corteza adrenal en su zona interna tal como se ha descrito en la literatura (116). Por otro lado, hemos comentado otro patrón de tinción en nuestra serie, preferentemente en la periferia tumoral hallazgo similar al descrito por Miller y cols. (118).

La cromogranina ha sido propuesta como un marcador universal potencial para las células neuroendocrinas y tumorales derivadas de éstas (4). Está presente en neuronas tanto del sistema nervioso como del sistema neuroendocrino difuso. Respecto a su función, se une a las catecolaminas como una proteína transportadora, de almacenamiento y participando en la liberación de sustancias biológicamente activas de los gránulos neurosecretores (170). Entre las limitaciones de la cromogranina está su inespecificidad no dando información sobre el origen del tumor. Del mismo modo, sabemos que su ausencia no descarta la presencia de células neuroendocrinas. La intensidad de la tinción se relaciona con el número de gránulos secretados en las células. Con ello queremos indicar que tumores con una alta riqueza en gránulos presentarían altos porcentajes de positividad. En nuestra serie se muestra un grado de positividad (+++) similar al descrito por otros autores (69).

La enolasa neuronal específica (ENE) no es restrictiva de las células neuroendocrinas (61), aunque es muy útil en el diagnóstico de neuroblastomas pobremente diferenciados y de otros tumores derivados de la cresta neural.

Presenta grandes limitaciones en su aplicación como el hecho de que la valoración de la ENE en neuropatología debe ser examinada en cada situación específica. La expresión

heterogénea de la ENE está relacionada con factores microambientales que afectan a los requerimientos metabólicos de una célula en el interior de un tumor (34). Según nuestros resultados los feocromocitomas esporádicos muestran una proporción de positividad del 75% , ligeramente inferior al encontrado por autores como Linnoila e Ivanova (97),(78) que los aproxima al 100%, justificando la relación existente entre el feocromocitoma y los tumores derivados de la cresta neural.

El HMB-45 es una proteína relacionada con el melanoma, que fue identificada por vez primera en el feocromocitoma por Unger y cols en 1992 (171). En nuestra serie no se ha obtenido inmunotinción en ningún caso. Dicha circunstancia puede deberse a la ausencia de reactividad cruzada entre los gránulos neurosecretorios de los feocromocitomas y los premelanosomas que son HMB-45 (+). Sustentando a este razonamiento estaría el hecho de que tanto el premelanosoma como los gránulos neurosecretorios del feocromocitoma tienen un origen embriológico común a partir de la cresta neural.

La calcitonina es un pepíido con una actividad homeostática sobre el calcio que tiene además la función de inhibir la secreción hipofisaria de hormona de crecimiento y poseer una potente acción vasodilatadora. En la literatura la proporción de positividad obtenida con el antisuero para la calcitonina ha sido del 23%.(98),(78). En nuestro trabajo la calcitonina se encontró en un tercio de los feocromocitomas esporádicos (33%). No se ha observado en estos pacientes importantes alteraciones de los niveles de calcio sérico lo cual podría explicarse por la producción de calcitonina no funcionante.

La presencia de VIP ha sido publicado con porcentajes diferentes a lo largo de la bibliografía revisada, así Linnoila (96) encontró positividad en el 43% de sus casos, Ivanova (78)

en el 23% y Capella (21) en el 50%. En nuestra serie llegamos a obtener un porcentaje de positividad del 53% con lo cual nuestros resultados son paralelos a los obtenidos por Capella (21) y diferentes a los de Ivanova (78). Ya que el VIP guarda relación con un predominio gangliocítico o neural, parece que esta serie presenta este patrón con mayor prevalencia de la encontrada por Ivanova. El VIP normalmente tiene un efecto vasodilatador importante observándose en los pacientes con tumores secretores de VIP funcionando una clínica de hipotensión junto a diarrea por la alteración que provoca de la motilidad intestinal. Por otro lado, la presencia de hipertensión en la serie de pacientes en los que se ha estudiado junto a la ausencia de diarrea nos permite suponer que el VIP secretado no ejerce un papel funcional. Tanto el VIP como la sinaptofisina tienden a dividir los tumores neurogénicos en dos poblaciones: el de células adrenérgicas que contienen catecolaminas y somatostatina y el de células colinérgicas que contienen VIP. El péptido intestinal vasoactivo tiene predilección por las células gangliónicas del feocromocitoma (149) lo cual ha sido confirmado en nuestro caso. Éste se ha presentado en forma de células dispersas, explicable por una distribución aislada de las células ganglionares en el parénquima tumoral.

La somatostatina está presente en nuestra serie en el 7% de los casos esporádicos. Sano y cols. en 1983 (145) describieron, por primera vez, la posibilidad de expresarse en un mismo paciente afecto de feocromocitoma tanto el péptido intestinal vasoactivo como la somatostatina. Esta expresión coincidente descrita primeramente por este autor en 1983 no ha podido encontrarse en nuestra serie de feocromocitomas esporádicos aunque sí en los casos de feocromocitomas familiares no MEN. Por otro lado, proporciones de hasta el 67% ha sido descrita por Linnoila (99); 53'3% por Ivanova (78) por Hessen (63) y Lamovec (90),

encontrándose su presencia en íntima relación con los gránulos de noradrenalina; de lo que se deduce la escasa presencia de esta sustancia en nuestra serie o más bien poca presencia de catecolaminas coexistentes con la somatostatina que sean inmunorreactivas. El patrón de presentación predominante ha sido el de grupos celulares positivos con predilección citoplásmica, demostrando que la somatostatina es un producto residual de algunas células tumorales. Ésta se ha encontrado en los cuerpos celulares del ganglio paravertebral donde se coexpresa con la noradrenalina (29) y con capacidad de inhibir la hormona de crecimiento de la hipófisis. Además ha sido localizada en el cáncer medular de tiroides y en el feocromocitoma, componentes ambos de los síndromes de Neoplasias Endocrinas Múltiples (170).

El primer autor que demostró inmunohistoquímicamente la ACTH fue Lamovec en 1984 con un porcentaje de positividad del 30 al 40% (90); Capella y Lauperen en 1988 (21) obtuvieron una proporción del 16'4%; Linnoila y Lack (88) mostraron una positividad del 28% e Ivanova y cols en 1990 (78) un 10%. En nuestra serie la positividad fue 30% muy similar al descrito por Linnoila y Lack (88) y por Lamovec en 1984 (90). Estos pacientes pueden presentar un grado severo de síndrome de Cushing, como describió Perry y cols (1989) (130), siendo rasgos característicos de éstos su predominio en mujeres, el ser en su mayoría tumores medulares adrenales no metastásicos y el tener una historia breve de seis meses o menos de duración con clínica de alcalosis, pérdida de peso, hirsutismo y profunda debilidad. Es importante tener en cuenta que Capella y cols en 1988 (43) llegaron a la conclusión que la demostración inmunohistoquímica de ACTH por el tumor no tiene que estar asociada con hipercortisolismo, apuntando la posibilidad de una ACTH no funcionante. La ACTH producida por el feocromocitoma, en caso de ser funcionante, juega un enorme papel en el tipo de

secreción del tumor cromafín ya que altas concentraciones de glucocorticoides son necesarias para inducir y mantener el enzima imprescindible de la síntesis de adrenalina. El que una célula de la medula segregue noradrenalina o adrenalina queda determinado por el lugar en que esté situada con respecto a la sangre rica en esteroides de la corteza. Una alta presencia de glucocorticoides en la médula adrenal humana permitiría el ambiente necesario para la secreción de adrenalina por el tumor. La cuestión difícil de relacionar estaría en que un amplio porcentaje de feocromocitomas ACTH positivos demostrado por inmunohistoquímica se relacionen con un ambiente corticoideo rico en la corteza. Por otra parte, Linnoila (96) encontró la ACTH en proporciones más altas en los tumores clínicamente malignos que en los benignos.

Referente a la relación entre los resultados inmunohistoquímicos y el grado de malignidad hemos observado que los tres casos malignos con metástasis hepáticas o ganglionares, presentaron positividad frente a 4 ó 5 neuropéptidos lo que contradice la observación hecha por Linnoila y cols en 1988 (97). Estos autores indicaron que los tumores de comportamiento benigno expresan mayor número de neuropéptidos que los malignos. La escasa expresión neuropeptídica de los malignos según la literatura, una media de dos, se manifiesta en la síntesis decreciente o en un procesamiento intracelular alterado de los mismos con la posibilidad de un almacenaje defectuoso. Siguiendo con este razonamiento podemos pensar que un tumor de comportamiento maligno secretaría menos péptidos al tener alterado todos los mecanismos de síntesis.

B. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES ASOCIADOS A NEOPLASIA ENDOCRINA MÚLTIPLE (MEN).

B.1. VARIABLES CLÍNICAS.

En la discusión de las variables clínicas estudiadas en los feocromocitomas asociados a Neoplasia Endocrina Múltiple nos centraremos en diferentes datos clínicos: la edad, el sexo, el estado de la tensión arterial; el diagnóstico de cáncer medular de tiroides sincrónico o simultáneo al feocromocitoma; los niveles de cortisol en el plasma y la presencia de litiasis biliar.

Referente a la edad observamos que en la serie de pacientes afectados de feocromocitomas asociados a neoplasias endocrinas múltiples la edad media en el momento del diagnóstico fue de 33 años. Dicha edad es sensiblemente inferior a la presentada por los pacientes afectados de feocromocitomas esporádicos, confirmándose los datos aportados por Carney y cols, (1994) (25) que la situaba en torno a los 30 años. Al ser los síndromes MEN una entidad de reconocido componente genético intuimos que las neoplasias con carga genética debutan a edades más precoces.

Los feocromocitomas asociados a síndrome MEN representan el 10% de todos los feocromocitomas según la bibliografía (47); en nuestra casuística corresponde al 19% de los casos.

Se ha constatado crisis de hipertensión paroxística en todos los pacientes donde este dato ha podido ser recopilado. Se ha demostrado asociación al cáncer medular de tiroides en siete casos y retraso en el diagnóstico de hasta seis años. Se ha recogido un caso con incremento del

cortisol plasmático lo que podría corresponder a un síndrome de Cushing paraneoplásico, situación descrita por Spark en 1979 (158). También se ha descrito una asociación a colelitiasis descrito por Glenner en 1974 (47).

B.2. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS DE LOS FEOCROMOCITOMAS ASOCIADOS A SÍNDROME MEN.

En cuanto a la localización, coincidimos con los casos descritos por Carney y cols. en 1994 (25) con una mayor frecuencia de bilateralidad que en los feocromocitomas esporádicos. En nuestra serie la bilateralidad apareció en el 85% de los pacientes.

La corteza adyacente a los feocromocitomas asociados a síndrome MEN se encontró atrófica en seis de los siete casos aportados; mientras que la hiperplasia cortical se observó en un caso a expensas de la zona fasciculada y reticular. Esta hiperplasia es secundaria a la producción de ACTH o ACTH-like funcionante por el tumor. Paradójicamente, en la corteza adyacente pueden aparecer zonas de atrofia; esto se podría explicar por el estrangulamiento del tumor medular sobre la masa de corteza adyacente. Los índices mitóticos en todos los casos estudiados han sido muy bajos, el pleomorfismo discreto y se han registrado metástasis en la evolución natural de los casos MEN.

B.3 CARACTERÍSTICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS DE LOS FEOCROMOCITOMAS ASOCIADOS A SÍNDROME MEN.

En los casos de medular de tiroides asociado a un feocromocitoma se ha estudiado la sinaptofisina (170) y también la cromogranina; en ambos se han descrito en el 100% de los

tumores con una fuerte positividad (+++), coincidiendo con los resultados aportados por Herrera y cols (69). La inmunotinción para la sinaptofisina ha sido en todo similar a la obtenida en los feocromocitomas esporádicos tanto en su intensidad como en su patrón homogéneo. Los feocromocitomas familiares MEN presentan inmunorreactividad en grupos celulares lo que los diferencia de los casos esporádicos. De esta forma, se confirma a la sinaptofisina como un marcador tumoral de las vesículas secretorias, altamente presentes en los tumores de nuestros pacientes y se confirma la definición dada en la literatura por la cual este anticuerpo es un buen marcador de diferenciación neural y neuroendocrina (52).

La alta positividad mostrada por el anticuerpo contra la cromogranina se debe al componente gangliocítico de estos tumores. También, se ha demostrado que la cromogranina actúa como una proteína transportadora, de almacén y de liberación de sustancias biológicamente activas en los gránulos neurosecretorios. Al ser el feocromocitoma una neoplasia rica en este tipo de gránulos, es lógico el alto porcentaje de positividad encontrado. Por tanto, la cromogranina es un marcador universal potencial para células neuroendocrinas y tumores derivados de ellos (4).

La somatostatina ha sido negativa en todos los casos lo que representa una contradicción con los datos existentes en la literatura y en los obtenidos por la serie de feocromocitomas esporádicos. La somatostatina es un marcador intimamente relacionado con la noradrenalina según Hasson y cols, 1984 (63); coexistiendo en los gránulos del mismo tumor. La explicación de esta disparidad puede ser la escasa secreción de noradrenalina en los feocromocitomas MEN, algo ya apuntado en la literatura (25). Otra posibilidad puede ser la baja inmunorreactividad de la somatostatina en los tejidos incluidos en parafina. Por ello, cabría la posibilidad de que

mejores resultados se hubieran obtenido con cortes congelados.

El porcentaje de positividad obtenidos en nuestros resultados para la calcitonina en los feocromocitomas asociados a MEN ha sido del 42%; siendo esta proporción más alta a la referida en la literatura (96) (78) . La bibliografía revisada muestra fuerte positividad (+++) (74) (90) lo cual ha sido demostrado también en nuestra serie. El patrón más frecuente observado en los feocromocitomas MEN ha sido el homogéneo, lo que lo diferencia de la inmunorreactividad de los casos esporádicos que se presenta en grupos celulares. Vemos pues, una diferente inmunorreactividad para la calcitonina dependiendo de si son casos esporádicos o asociados a Neoplasias Endocrinas Múltiples. Una posible explicación de esto puede ser que las neoplasias endocrinas múltiples asociadas a cáncer medular tiroideo presentan altos niveles de calcitonina en suero circulante, que incluso puede ser utilizado como marcador tumoral de las neoplasias.

En nuestros resultados quedó reflejado como el VIP fue positivo en el 14% de los casos, siendo este porcentaje más bajo que el encontrado por otros autores. Linnoila y Lack (96) (97) obtuvieron un 43% de casos positivos, Ivanova un 26% (78) y Capella un 50% (21). La presencia de VIP corre paralela con la existencia de factores neuronales o ganglionares según Linnoila (97). Por lo tanto, una explicación al bajo porcentaje de la serie es la poca existencia de dicho factor neuronal o ganglionar en la misma. El patrón de distribución del VIP en el interior del parénquima tumoral ha sido el de elementos celulares dispersos (+) coincidiendo con el patrón inmunohistoquímico encontrado en los feocromocitomas esporádicos. El VIP se ha localizado en el interior de las células gangliónicas según los datos aportados por Schmid y cols (149) y no se correlaciona clínicamente con la ausencia de hipertensión, ya que los casos VIP (+) han tenido clínicamente cifras elevadas de tensión arterial. En los pacientes, con tumores VIP (+),

no apareció diarrea, tal como se describe por Sano (145).

La enolasa neuronal específica está presente en nuestra serie en el 85% de los casos, sin que contradiga los datos registrados por Herrera y cols (69). Es importante tener en cuenta que la enolasa presenta un comportamiento inmunohistoquímico similar al encontrado en los casos esporádicos, de lo que se deduce su fuerte relación con tumores neuronales y derivados de la cresta neural.

La ACTH se encuentra presente en un 45%, lo que representa una proporción sensiblemente superior a la aportada por otros autores (97),(78),(21). La serie de proporción más alta es la de Lamovec (90) que arroja porcentajes del 40%, coincidiendo con la obtenida en nuestros pacientes. El estudio clínico demostró en el caso número 11 obesidad y altos niveles de cortisol en plasma, siendo la inmunotinción positiva para la ACTH. Por tanto posiblemente sea un síndrome de Cushing paraneoplásico similar al descrito por Spark y cols. (158). Estos casos son infrecuentes ya que, el síndrome de Cushing en los casos de feocromocitomas asociados a MEN-II se presenta en muy bajo porcentaje (61).

C. FEOCROMOCITOMAS FAMILIARES no MEN.

C.1. VARIABLES CLÍNICAS.

En una serie descrita por Glenner (47) se asocia el feocromocitoma a la enfermedad de von Hippel-Lindau, a la enfermedad de von Recklinghausen y al síndrome de Stuger-Weber como entidades de reconocida herencia familiar. Los pacientes afectos de Stuger-Weber presentan en un 5% de casos tumores cromafines mientras que los afectos de enfermedad de von Recklinghausen tienen feocromocitomas en una proporción del 0'5-1%. Por último, la

enfermedad de von Hippel-Lindau presenta la misma asociación en un 10 al 25% de los casos (4). Nuestra serie ha recogido tres casos asociados a enfermedad de von Recklinghausen y un caso asociado a enfermedad de von Hippel-Lindau. Precisamente la entidad con menor proporción de asociación según la literatura (enf. de von Recklinghausen) ha aportado mayor número de pacientes en nuestra serie. Esta enfermedad se asocia con neurofibromas cutáneos y viscerales, manchas cutáneas café con leche, schwannomas malignos y benignos; meningiomas y gliomas. En nuestros enfermos se describieron neurofibromas cutáneos y viscerales, manchas cutáneas café con leche pero ningún schwannoma benigno o maligno, meningiomas o gliomas. El caso estudiado de enfermedad de von Hippel Lindau asociado a feocromocitoma demostró sólo la existencia de lesiones retinianas. La edad media de presentación fue de 27 años, más baja que en los casos esporádicos y asociados al síndrome MEN. Las neoplasias asociadas al síndrome MEN y con reconocida base genética debutan en enfermos de edades muy tempranas.

Carney encontró que los casos familiares MEN más del 95% presentó ataques paroxísticos y sólo un 5% presentó hipertensión sostenida. En nuestros pacientes se registraron incrementos en forma de hipertensión sostenida o con ataques paroxísticos típicos en un caso no coincidiendo con las afirmaciones dada por el anterior autor (25).

C.2 VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS DE LOS FEOCROMOCITOMAS NO MEN.

En la discusión de los datos anatomopatológicos de este tumor medular comenzaremos indicando que la unilateralidad de nuestros casos contradice los datos aportados por Carney (25) que defendían la bilateralidad en los feocromocitomas familiares no MEN. La Corteza

adyacente al tumor ha sido hiperplásica con un patrón nodular en un caso y atrófica en las tres restantes. La atrofia se puede producir por compresión de la masa tumoral vecina asentada en la médula mientras que en la hiperplasia intervienen factores tales como ACTH o ACTH-like producidos por la neoplasia. La existencia de casos ACTH positivo rodeados de corteza adyacente atrófica nos apuntarían a la posibilidad de la producción de factores ACTH like no funcionantes y por lo tanto sin repercusión anatomoclínica.

Otros rasgos íntimos del propio feocromocitoma fueron los índices mitóticos, muy bajos en todos los casos estudiados y la invasión vascular ausente en los cuatro casos aportados, los cuales no me justificarían el comportamiento benigno o no metastásico en su evolución natural. Estos parámetros anatomopatológicos no presentan interés pronóstico que nos sirvan para valorar malignidad como ya he referido anteriormente.

C.3. INMUNOHISTOQUÍMICA.

La sinaptofisina se encontró presente en todos los feocromocitomas familiares no MEN, mostrándose tres casos moderadamente y uno intensamente positivos lo cual es característico de los tumores con origen neural (181). Tanto el porcentaje de presentación como el patrón de distribución intralesional coincide tanto con los casos esporádicos como con los familiares MEN anteriormente descritos. El patrón de distribución de la sinaptofisina en el tumor ha sido de una intensa positividad citoplasmática y en la corteza adrenal interna principalmente tal como lo describieron Miettinen y cols (115). Dicho autor llegó a la conclusión de que en términos de especificidad la sinaptofisina puede ser mejor marcador neuroendocrino que la enolasa neuronal específica.

La cromogranina presentó una fuerte positividad en todos nuestros pacientes con resultados similares a los obtenidos por Herrera y cols.(69), y con un patrón de inmunotinción preferentemente homogéneo similar a los casos esporádicos. No se obtienen con este antisuero diferencias aparentes con los datos registrados en la literatura (100) demostrándose un importante papel en el empaquetamiento de los gránulos.

Para la enolasa específica neuronal el porcentaje observado en los casos familiares no MEN alcanza una proporción similar a la encontrada en los pacientes con feocromocitomas esporádicos, llegando al 75% confrontándose con datos en la literatura siendo similar el porcentaje descrito (78) (97). Se confirma, por tanto su alta presencia en tumores neuronales y derivados de la cresta neural.

En la bibliografía revisada la calcitonina presenta un porcentaje de positividad del 23% (78) (97), con índices de inmunotinción paralelos a los encontrados en nuestro trabajo que han llegado al 25%. El patrón de presentación ha sido de grupos celulares positivos coincidiendo con los esporádicos mientras que los casos MEN han presentado un patrón homogéneo. Estos diferentes patrones de distribución pueden deberse a factores microambientales que dentro del tumor modifica su inmunorreactividad.

El porcentaje de positividad frente al VIP en nuestros feocromocitomas familiares no MEN dió un porcentaje del 50%, similar al aportado por Capella y Lauper (21). La morfología de presentación ha sido homogénea, algo ya presente en los casos esporádicos aunque no de manera predominante. Clínicamente, los pacientes con tumores productores de VIP presentaron menor índice de hipertensión, debido al efecto vasodilatador y al incremento del volumen plasmático, según Said (142, 143) y Herrera (69). La ausencia de hipertensión en nuestros

pacientes, incluso en aquellos con inmunotinción VIP+ nos orientan hacia tumores productores de VIP no funcionantes. Serían tumores productores de moléculas VIP-like sin repercusión clínica alguna.

La somatostatina presenta inmunotinción positiva en el 25% de los casos analizados lo cual es sensiblemente inferior a otras series(21) (69) (87). Dentro de los tres grandes grupos que hemos analizado, hemos observado que los casos de feocromocitomas familiares no MEN presentan el porcentaje más alto. El patrón de presentación ha sido el de grupos celulares positivos coincidiendo en todo con los casos esporádicos. La somatostatina coexiste con la noradrenalina en los gránulos secretores del feocromocitoma. La expresión simultánea de VIP y somatostatina en el mismo tumor fue referida por Sano (305). Dicha circunstancia ha podido ser corroborada en uno de nuestros pacientes afectos de feocromocitomas familiares no MEN.

La ACTH ha sido observada en una proporción muy alta del 75%, sensiblemente mayor que todas las series publicadas (97). El valorar un número tan escaso de pacientes (4) posiblemente nos ha hecho obtener proporciones no coincidentes con las series más amplias. Existe coincidencia en cuanto al patrón de presentación del reactivo en el tumor tanto en los casos familiares como los esporádicos, siendo de carácter homogéneo y moderadamente positivo. La impregnación generalizada del tumor por la adrenocorticotropina nos justificaría esta distribución homogénea.

VI. CONCLUSIONES

1. En el feocromocitoma la demostración de invasión vascular en cortes histológicos no implica comportamiento biológico maligno. El índice mitótico carece de valor predictivo.
2. Los feocromocitomas familiares, asociados o no a síndrome MEN, muestran una edad de presentación más baja que los feocromocitomas esporádicos.
3. Los feocromocitomas asociados a síndrome MEN presentan una alta incidencia de bilateralidad, mientras que los feocromocitomas familiares no asociados a síndrome MEN muestran baja incidencia de bilateralidad, muy próxima a la de los esporádicos.
4. No existe relación entre el número de neuropéptidos segregados por las células del feocromocitoma, demostrados por métodos inmunohistoquímicos y el comportamiento biológico del tumor.
5. El feocromocitoma muestra inmunorreactividad positiva para la cromogranina, de modo difuso e intenso, mientras que la inmunorreactividad para la enolasa neuronal específica presenta diferentes patrones de distribución. También presenta alta incidencia de inmunorreactividad positiva para la sinaptofisina. Estas características inmunohistoquímicas son semejantes en todas las formas de feocromocitomas, esporádicos o familiares.
6. No existe relación entre feocromocitomas con células inmunorreactivas para VIP y la presentación de un cuadro clínico acompañado de diarreas. Además, los feocromocitomas con

inmunorreacción positiva para VIP muestran hipertensión arterial con incidencia semejante a los de inmunorreactividad negativa para el neuropéptido.

7. Los feocromocitomas esporádicos la inmunorreactividad para el VIP es superior a la de los feocromocitomas familiares.

8. Los feocromocitomas esporádicos muestran con frecuencia células inmunorreactivas para ACTH, sin que ello necesariamente implique asociación paraneoplásica con síndrome de Cushing. No obstante, los feocromocitomas con inmunorreactividad positiva para la ACTH se suelen asociar con hiperplasia cortical, principalmente a expensas de la zona fasciculada y reticular.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Adrian TF, Allen JM, Terenghi G, Bacarese-Hamilton AJ, Brown MJ, Polak JM.
Neuropeptide Y in pheochromocytomas and ganglioneuromas
Lancet 1981;1:1.540-542.
2. Aguilo F, Tamayo N, Vázquez Quintana E.
Pheochromocytoma: A twenty years experience at the University Hospital.
PRHS 1991;10:135-142.
3. Amberson JB, Vaughan ED Jr., Gray GF, Naus GJ:
Flow cytometric determination of nuclear DNA content in benign adrenal pheochromocytomas
Urology 1987;30:102-104.
4. Angeletti Rh.
Cromogranins and neuroendocrine secretion.
Lab Invest 1986;55:387-90.
5. Axiotis CA, Lippe Ha, Memo MJ, de Lenerolle NC, Stewart AF, Kinder B.
Corticotroph cell pituitary adenoma within an ovarian teratoma: a new cause of Cushing Syndrome.
Am J Surg Pathol 1987;11:218-24.
6. Aznavorian S, Murphy AN, Stetter-Stevensen WG, Liotta LA.
Molecular aspects of tumor cells invasions and metastasis.
Cancer 1993;71:1368-1383.
7. Ballesta J.
Distribution and localization of regulatory peptides.
CRC Crit Rev Clin Lab Sci 1985;22:185-218.
8. Barbacid.
ras Genes
Annual review of Biochemistry 1987;56: 779-827
9. Bauer FE, Hacker GW, Terenghi G.
Localization and molecular forms of galanin in human adrenals: Elevated levels in pheochromocytoma.
J Clin Endocrinol Metab 1986;63:1372-1378.
10. Beard CM, Sheps SG, Kurtland LT.
Occurrence of pheochromocytoma in Rochester MINNESOTA, 1950 through 1979.
Mayo Clin Proc 1983;58:802-804.
11. Becker.
Immunocytochemical localization of calcitonin in Kulchitsky cells of human lung.

Arch Pathol Lab Med 1980;104:196-8.

12. Berenyi MR, Singh G, Gloster.
ACTH producing pheochromocytoma.
Arch Pathol Lab Med 1977;101:31-35.

13. Bloodworth JMB Jr.

The endocrine pancreas and diabetes mellitus en: Blocheorth JMOB Jr Editores. *Endocrine Pathology General and Surgical.*

Williams & Wilkins. Baltimore, 1982: 556-721.

14. Bloom SR.

Vasoactive intestinal peptide and watery diarrhea syndrome.

Lancet 1973;2:14-6.

15. Blum I, Westein R, Szotorn MO, Lehav M.

Adrenergic receptor hiperactivity: A cause for pseudopheochromocytoma?

Med Hypotheses 1987;22:89-96.

16. Bostwick BG, Null WE, Homes D.

Expression of opioid peptides in tumors.

N Engl J Med 1987;317:1439-1443.

17. Brandenburg Rojr, Gutmk LM, Nelson RL.

Factitial epinefrine only secreting pheochromocytoma.

Ann Intern Med 1979; 90:795-96.

18. Bravo EL.

Envolving concepts in the pathophysiology, diagnosis and treatment of pheochromocytoma.

Endocrin Rev 1994; 15:356-368.

19. Bulenda D, Gratzl M.

Matrix free Ca⁺ in isolated chromogranin vesicles.

Biochemistry 1985;24:7760.

20. Busolati G, Pearse Age.

Immunofluorescent localization of calcitonin in the C-cells of the pig and dog thyroid

J Endocrinol 1967;37:205-9.

21. Capella C, Riva C, Comanggia M, Charavelli A, March Frigero B.

Histopathology, cytology and cytochemistry of pheochromocytoma and paraganglioma including

chemodectomas.

Path Res Pract 1988;183:176-87.

22. Carney, Ship SG, Go VLW, Gordon H.

The triad of gastric leiomyosarcoma, functioning extraadrenal paraganglioma and pulmonary chondroma.
N Engl J Med 1977;296:1517-1518.

23. Carney JA.

The triad of gastric epitheloid leiomyosarcoma, functioning extraadrenal paraganglioma and pulmonary chondroma.

Cancer 1979;43:374-382.

24. Carney JA:

The triad of gastric epitheloid leiomyosarcoma pulmonary, chondroma, and functioning extraadrenal paraganglioma: A few years review.

Medicine 1983;32:159-169.

25. Carney JA. Hugo Galero Davidson, González Campora editores.

Curso de Patología Oncológica. Conferencia de Tumores endocrinos. Feocromocitoma. 1994. Octubre 27-29. Sevilla

Universidad de Sevilla, 1994.

26. Case records of the Massachusetts General Hospital.

Case 46-1988; Case 45-1989

N Engl J Med 1988; 319:1336-1343. *N Engl J Med* 1989; 321:1316-1329.

27. Chejfe C G, Grimelius L, Jacobsson B, Rodensjo M, Wiedermann B, Franke WW.

Synaptophysin: A new marker for pancreatic neuroendocrine tumors.

Am J Sur Pathol 1987;11:241-7.

28. Cohn Dv.

Similarity of secretory protein I from parathyroid gland to chromogranin A from adrenal medulla

Proc North Acad Sci 1982; 79:6056-9.

29. Cote RJ, Gordon, Cardo C, Reuter VE, Rosen PP.

Immunopathology of adrenal and renal cortical tumors: Coordinated change in antigen expression in associated with neoplastic conversion in the adrenal cortex

Am J Pathol 1990;136:1077-1084.

30. Dawson DW y Tapp E.

A compound tumor of the adrenal medulla.

J Pathol 1969;97:231-233.

31. Deal JE;Sever PS;Banatt TM,Dillen MJ.

Phaechromocytoma-investigation and manegement of 10 cases.

Arch Dis Child 1990;65 Suppl 3:269-74.

32. Deftos LJ.

Demostration of immunoperoxidasa histochemistry of calcitonins in the anterior lobe of the rat pituitary.

J Clin Endocrinol Metab 1978;47:457-60.

33. Dupont AG,Somers G, Van Starteghem AC,Warson F, Van Haellst L.

Ectopic adrenorticotropin production disseperance after removal of inflamatory tissue

J Clin Endocrinol Metab 1984;58:654-8.

34. Jule M Elias.

Immunohistopathology A practial Approach to Diagnosis.

ASCP Press 1990;1:115-127.

35. Erikson,H.Aruber,K Oberg,V Hellman,G.Hudguist,C.Wenstedtard.

A polyclonal antisuerum against chromogranin A and B a new sensitive marker for neuroendocrine tumors.

*Acta Endocrinol (Copenh)*1990;122 Suppl 2:145-55.

36. Evan RW.

Pheochromocytoma. En Evan editores.Histological Appearance of Tumors.

Edimburg E&S.Livingstone 1956:206-229.

37. Fahrenfrug J.

Vasoactive intestinal polypeptide:Functional aspects.

Br Md Bull 1982;38:265-71.

38. Juan Fernández Sanz.

Tumores del sistema nervioso periférico. Tesina de licenciatura.

*Universidad de Salamanca.Facultad de Medicina.Departamento de Histología y A. P.*1972:15-18

39. Fischer BM,Mc Phea GJA,Davies DL.

A case of watery diarrhaeae syndrome due to an adrenal pheochromocytoma secreting vasoactive intestinal polypeptide with coincidental autoimmune thyroid disease.

*Acta Endocrinol (Copenh)*1987;114:340-344.

40.Fischler DF, Núñez C, Leirn HS.

Adrenal carcinosarcoma presenting in woman with clinical sign of virilization:A case report with

immunohistochemical and ultrastructural findings.

Am J Surg Pathol 1992;16:626-631.

41. Formar BH, Marban E, Kayra RD.

Ectopic ACTH syndrome due to pheochromocytoma.

Yale J Biol Med 1979;82:181-189.

42. Frankel F

E in fall von doppel setigen volling latent verlaraferien. Weben incretina and gleichzeitiger negnuts int veränderung and circulator sopporrat and retunsts.

Virchows Arch(A) 1986;103:244-263.

43. Franqueraont DW, Mills SE, Lack EE.

Immunohistochemical detection of neuroblastoma foci in composite adrenal pheochromocytoma-neuroblastoma

Am J Clin Pathol(in press)

44. Hugo Galera Davidson.

Estudio estructural de las glándulas adrenales.

Universidad de Sevilla, 1987.

45. Gibbs MK, Carney JA; Hayles AB, Telander Rh.

Simultaneous adrenal and cervical pheochromocytoma in childhood.

Ann Surg 1977;185:273-278.

46. Gibson WC, Peng TC, Croker BP.

C-cell nodulos in adulte human thyroid.

Am J Pathol 1981;75:347-50.

47. Glenner GG, Grimley PM .

Tumors of the extraadrenal paraganglio system(including chemoreceptors). En AFID editores. Atlas of Tumor Pathology.

Washinton DC 1974;9:270-294.

48. Golfzieher JW, MacMahon HE, Goldzieher MA.

Coartacion of the abdominal aorta simulating pheochromocytoma.

Arch Intern Med 1951;88:835-839.

49. González Campora, Díaz Cano; Lerma Puertas, Rios Martin JJ, Salguero Villadiego, Davidson HG.

"Paragangliomas. Satatic cytometric studis of nuclear DNA patterns.

Cancer 1993;171:820-4.

50. Gould VE, Memoh VA, Dardi LE.
Multidirectional differentiation in human epithelial cancers.
J Submicrosc Cytol 1981;13:97-115.
51. Wiston E. Gould, M.D. and Sheldon C. Sommers M.D.
Adrenal medulla and paraganglioma. Sommers editores. *Endocrine Pathology*.
Lippicott 1986: 473-496.
52. Gould VE, Wiedenmann B, Lee I.
Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry
Am J Pathol 1987;126:243-57.
53. Grizzle WE, Tolbert L, Pittman CS.
Corticotropin production by tumors of the anatomic nervous system.
Arch Pathol Lab Med 1984;108:545-550.
54. Guyton.
Sistema renina-angiotensina. Emalsa Editores. Tratado de fisiología.
Interamericana 1984;1:528-30.
55. Hassoun J, Monges G, Girand P, Henry JF, Charpin C, Payan H.
Immunohistochemical study of pheochromocytomas. (An investigation of methionine-enkephalin, vasoactive intestinal peptide, somatostatin, corticotropin, B-endorphin and calcitonin in 16 tumours).
Am J Pathol 1984;114:56-63.
56. Haykeisser.
Pheochromocytoma. Rakel editores. Manual Conn de Terapéutica.
Interamericana. Mc Graw-Hill 1990: 666.
57. Hacker GW, Bishop AE, Terengh G, J. Pollard K, Thurner J, Polak JM.
Multiple peptide production and piserarce of general neuroendocrine markers detected in 12 cases of human phaeochromocytoma and mamalian adrenal glands.
Virchow Arch A 1988; 412:399-411.
58. Hamid QA, Bishop AE, Rode J, Rosemberg BF, Polak JM.
Duodenal gangliocytic paragangliomas: A study of 10 cases with immunocytochemical neuroendocrine markers.
Hum Pathol 1986;17:1151-1157.
59. Hansson G, Falkmer VG, Jansso S.
Unpublished observations.

60. Harrison.
Feocromocitoma. Mc Graw Hill editores.Principios de Medicina Interna.
Interamericana 1992;2:2016-2025.
61. Hartmann CA;Gross V;Stem H.
Cushing syndrome asociated pheochromocytoma and adrenal carcinoma.
An immunohistological investigation.
Pathol Res Pract 1992; 188:287-95.
62. Haselbacher GK,Irminger J-C,Ziegler WH,Humbel RE.
Insulin like growth factor II in human adrenal pheochromocytomas and Wilin's tumors:Expressional the mRNA
and protein level.
Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84:1104-1106.
63. Hassom J,Monges G,Girard P.
Immunohistochemical study of pheochromocytomas.An investigation of methionine enkephalin,vasoactive
intestinal peptide,somatostatin,corticotropin,betaendorphin and calcitonin in 16 tumors.
Am J Pathol 1984;114:56-63.
64. Heath H,Edis AJ.
Pheochromocytoma associated with hypercalcemia and ectopiz secretion of calcitonin.
Ann Intern Med 1979; 91:208-210.
65. Hedinger E.
Strume medular cystic suprarrenales.
Frankg Pathol 1911; 7:112-126.
66. Helman LJ,Cohen PS,Averbuch SD.
Neuropeptide Y expression distinguishes malignant from benign pheochromocytoma.
J Clin Oncol 1989;11:1720-1725.
67. Helman LJ,Cooper HJ,Cohen PS,Israel MA.
Molecular biology of neuroblastoma and pheochromocytoma.
In:Lack EE8ed.Pathology of the adrenal glands.
Churchill Livingsstone,New York 1990;311-321.
68. Hennigsson C, Hoffmann S, Mcgoniglel,Winter JSD.
Acute mercury personning(Acrodynia)mimicking pheochromocytoma in an adolescent.
J Pediatr 1993;122:252-253.
69. Miguel F.Herrera,MD,Elaine Stone,MD Merryn Deitel MD;Sylkvia L.Asa,MD,PHD.

- Pheochromocytoma producing multiple vasoactive peptides.**
Arch Surg 1992;127: 105-108.
70. Heym C, Kummer W.
Regulatory peptides in Paraganglia.
*Stuttgart Gustav Fisher Verbog*1988;1: 1-95.
71. Hick FK.
A suprarenalin-producing pheochromocytoma of the suprarenal gland.
Arch Pathol 1933;15:665-674.
72. Horvath E, Hse G y Kovacs K.
Emigratie bodies in human corticotroph cells.
Acta Anat 1977;98:427-33.
73. Hosaka Y, Rainwater LM, Grant CS .
Pheochromocytoma: Nuclear deoxyribonucleic acid pattern studied by flow cytometry.
Surgery 1986;100:1003-1010.
74. Hume DM.
Pheochromocytoma in the adult and in the child.
Am H Surg 1960;99:458-496.
75. Imai, Finahashi H, Sato Y, Nuzaki H, Vede M y Takagi H.
Multiple functioning paraganglioma associated with polycythemia.
J Surg Oncol 1984;39:279-282.
76. Inagaki S, Kubota Y, Kitos.
Immunoreactive atrial natriuretic polypeptides in the adrenal medulla and sympathetic ganglic
Regul Pept 1986 ;15:249-260.
77. Interlandi JW, Hundley RE, Kasselberg AG.
Hypercortisolism diarrheae with steathorrhoea, and massive proteinuria due to pheochromocytoma
South Med J 1985;78:879-883.
78. Ivanova-RS; Dashov GI.
Neuroendocrine features of adrenal pheochromocytoma: histological and immunocytochemical evaluation
Neoplasma 1990;37:219-224.
79. Johnson TL, Zarbo RJ, Iloyd rv, Crisman.
Paragangliomas of the head and neck: Immunohistochemical neuroendocrine and intermediate filament typing.

Mod Pathol 1988;1:216-223.

80. Kaplan RA, Hellenten S y Alou V.

Evaluation of the hypertensive child .

Child Nephrol Urol 1992;12:106-12.

81. Kaufman BH, Telander RL, van Heerden JA.

Pheochromocytoma on a pediatric.

Surg 1983;18:879-884.

82. Kimura N, Sasano N

Hypertrophy of renin containing cells in a malignant pheochromocytoma: An immunohistochemical and semiquantitative study.

Human Pathol 1986;17:425-428.

83. Kimura N, Naksato Y, Nagura H, Sassano N.

Expression of intermediate filaments in neuroendocrine tumors.

Arch Pathol Lab Med 1990;114:506-510.

84. Kimura M, Miura Y, Nagatsu I, Nagura H.

Catecholamine synthesizing enzymes in 70 cases of functioning or non-functioning pheochromocytoma and extra-adrenal paraganglioma.

Virchows Arch (A) 1992;421:25-32.

85. Kovacs.

Endocrinal functional, Kovacs editores. Pathology.

Interamericana, 1990; 1980-1985.

86. Krisch K, Horvatg, Krisch.

Immunochemical characterization of a novel secretory protein (defined by monoclonal antibody HISL-19) of peptide hormone producing cells which is distinct from chromogranin A, B and C.

Lab Invest 1988;58:411-420.

87. Kruse J.

Neural cell adhesion molecules and myelin associated glycoprotein share a common carbohydrate moiety recognized by monoclonal antibodies and HNK-1.

Nature 1984;311:153-5.

88. Lack EE .

Adrenal medullary hyperplasia and pheochromocytoma.

Lack EE, editores. Pathology of the adrenal glands.

Churchill Livingstone New York 1990; 173-235.

89. Laliberte F, Laliberte M-F, Alhave Gelas F, Charllard C.

Cellular and subcellular immunohistochemical localization of angiotensin-converting enzyme in the rat adrenal gland.

Lab Invest 1987;56:364-371.

90. Lamovec J, Memol VA, Tezaki Ja, Somer SC, Gould VE

Pheochromocytoma producing immunoreactive ACTH with Cushing syndrome:

Ultrastruct Pathol 1984;7:41-8.

91. Lansberg L, Young JB.

Catecholamines and the adrenal medulla. En Williams editores. Textbook of endocrinology

Filadelfia WB Saunders 1992;1: 621-705.

92. Lee PH, Blute R Jr, Malhotra R.

A clinically silent pheochromocytoma with spontaneous hemorrhage.

J Urol 1987;138:1429-32.

93. De Lellis RA, Tischler AS, Lee AK.

Leu-enkephalin-like immunoreactivity in proliferative lesions of the human adrenal medulla and extra-adrenal paraganglia.

Am J Surg Pathol 1983;7:29-37.

94. De Lellis RA, Tischler AS, Wolfe HJ.

Multidirectional differentiation in neuroendocrine neoplasms.

J Histochem Cytol 1983;32:899-904.

95. Lewis PD.

A cytophotometric study of benign and malignant pheochromocytomas.

Virchows Arch(B)1971;9:371-376.

96. Linnoila RI, Keiser HR, Steinberg SM, Lack EE.

Histopathology of benign versus malignant sympathoadrenal paragangliomas: Clinico-pathologic study of 120 cases including unusual histologic features.

Human Pathology 1990;21:1168-1180.

97. Linnoila R, Lack EE, Steinberg SM, Keiser HR.

Decreased expression of neuropeptides in malignant paraganglioma: an immunohistochemical study

Hum Pathol 1988;19:41-50.

98. Linnoila RI, Bercker RL Jr, Stenberg SM.
The role of S-100 protein containing cells in the prognosis of simpatoadrenal paragangliomas
Mol Pathol (A) 1993;39 Suppl 6:210.
99. Lloyd RI and Warner TF.
Immunohistochemistry of neuron specific enolase. De Lellis editores. *Advances in Immunohistochemistry*
Lippicot 1986; 1:100-150.
100. Lloyd RL, Shapiro B, Sisson JC, Kalf, Thompson NW y Bane Walter WA.
An immunohistochemical study of pheochromocytoma.
Arch Pathol Lab Med 1984;108:541-4.
101. Lloyd RV, Wilson BS, Kovacs K; Ryan N.
Immunohistochemical localization of chromogranin in human hypophysis and pituitary adenomas
Arch Pathol Lab Med (B) 1985;109:515-7.
102. Lurvey A, Yussin A, De Quanttro V.
Pseudopheochromocytoma after delfed minstered isoproterenol.
J Clin Endocrinol Metab 1971;36:766-769.
103. Luton JP, Theblot PH, Bricara H.
Association syndrome Cushing pheochromocytoma.
N Press Med 1977;6:4053-7.
104. Manger WM, Gridfford RW JR.
Pheochromocytoma. Manger Editores. *Endocrinal Pathology*.
Springer Verlag 1977; 1220-25.
105. Mathew C G P, Chin K S, Easton D F.
A linked genetic marker for multiple endocrine neoplasia type 2A on cromosoma 10.
Nature 1987;328:527-28.
106. Mathison DA, Waterhouse CA.
Cushing's syndrome with hypertensive crisis and mixed adrenal cortical adenoma-
pheochromocytoma(corticomedullary adenoma)
Am J Med 1969;47:635-41.
107. Matta MK, Prorok JJ; Trimpi HD.
WDHA syndrome caused by pheochromocytoma: Report of a case.
Dis Colon Rectum 1978;21:297-301.

108. Medeiros LJ, Wolf BC, Balogh K, Federman M.
Adrenal pheochromocytoma. A clinicopathologic review of 60 cases.
Human Pathol 1985;16:580-589.
109. Melicow MM.
One hundred cases of pheochromocytoma (107 tumors) at the Columbia-Prebysterian Medical Center, 1926-1976. A clinicopathologic analysis.
Cancer 1977;40:1987-2004.
110. Meloni CR, Tucci J, Canary JJ, Kyle LH.
Cushing's syndrome due to bilateral adrenocortical hyperplasia caused by a benign adrenal medullary tumor
J Clin Endocrinol Metab 1962;4 Suppl 3:1192-1200.
111. Mendelsohn G, Eggleston JC, Olson JC.
Vasoactive intestinal peptid and its relationship to ganglion cell differentiation in neuroblastic tumors.
Lab Invest 1979;41:144-149.
112. Mendelsohn G, Baylin SB, Eggleston JC.
Relationship of metastatic medullary thyroid carcinoma and calcitonin content of pheochromocytoma: An immunochemical study.
Cancer 1980; 45:498-502.
113. Mendoca BB, Medureira G, Bloise Albergaria, Halpern, Liberman Villares, Batista.
Cushing syndrome due to ectopic ACTH secretion.
Rev Paul Med 1989;107:29-36.
114. PH Meyer
Glándulas endocrinas. En Meyer editores. *Fisiología Humana*
Salvat 1990; 1:370-373.
115. Miettinen M, Lelito V-P y Virtanin.
Immunofluorescence microscopic evaluation of the intermediate filament expression of the adrenal cortex and medulla and their tumors.
Am J Pathol 1985;118:360-366.
116. Miettinen M.
Synaptophysin and neurofilament proteins as marker for neuroendocrine tumors.
Arch Pathol Lab Med 1987;111:813-818.
117. Miettinen H, Saari A.
Pheochromocytoma combined with malignant schwannoma: Unusual neoplasm of the adrenal medulla

- Ultrastruct Pathol* 1988;12:513-527.
118. Miller DC, Koslow M, Budzilovich GNBunsten DE.
Synaptophysin: A sensitive and specific marker for ganglion cells in central nervous system neoplasms.
Human Pathol 1990; 21:271-276.
119. Mink-W, Clemens A, Bell J, Dick H.
Malignant peripheral nerve sheath tumor and pheochromocytoma:
A composite tumor of the adrenal.
Arch Pathol Lab Med 1988; 112:266-270.
120. Modlin IM, Franidon JR, Shepheral.
Pheochromocytomas in 72 patients: clinical and diagnostic features, treatment and long term results.
Br J Surg GG 1979;1:456-465.
121. Murphy GP, Abramonci A, Servadio C, Surfur G
Further studies of the transplantable rat pheochromocytoma.
Oncology 1987;44:383-385.
122. Nakagawara A, Ikada K; Tsumayoshi M.
Malignant pheochromocytoma with ganglioneuroblastomatous elements in a patient with von Recklinghausen disease.
Cancer 1985;55:2794-2798.
123. Naruse K, Murakoshi M, Osamura RY, Naruse M, Toma H, Watanabe K.
Immunohistological evidence of renin in human endocrine tissues.
J Clin Endocrinol Metab 1985;61:172-7.
124. Nativ-O; Grant CS, Shap SG, O'Fallonl, Farrow GM, Heber MN.
Clinical significance of nuclear DNA ploidy pattern in 184 patients with pheochromocytomas.
Cancer 1992;69 Suppl 11:2683-7.
274. Nativ-O; Grant CS; Shaps SG; Farrow GM, van Hierder JA, Hebermn.
Prognostic profile for patients with pheochromocytoma derived from clinical and pathological factors and DNA ploidy pattern.
J Surg Oncol 1992; 50 Suppl 4:258-62.
125. Neville AM.
The adrenal medulla IN: Synington R ed. Functional Pathology of the adrenal gland.
Baltimore. Williams & Wilkin 1969;1:219-324.

126. O'Connor DT, Burton D y Deftos LJ.
Chromogranin A: Immunohistology reveals its universal occurrence in normal polypeptide hormone producing endocrine glands.
Life Sci 1983;33:1657-1663.
127. Padberg BC, Garbe E, Achilles E, Dralle H, Bressel M, Schröder S.
Adenomedullary hyperplasia and pheochromocytoma. DNA cytometric findings in 47 cases.
Virchow Arch (A) 1985;416:443-446.
128. David L Page MD, Ronald A, De Lellis MD, Anbrey J Hough JR. MD.
Adrenal medullary tumors: Pheochromocytoma. In AFIP editores. Atlas of Tumor Pathology.
Washington 1985;16:204-235.
129. Paloyan EE, Scarn A, Strauss RH.
Familial pheochromocytoma, medullary thyroid carcinoma and parathyroid adenomas.
JAMA 1970;214:1443-1447.
130. Perry RR, Nieman LK, Critler GB JR, Chonsos, Lonjauro DI, Doppmann JL.
Primary adrenal causes of Cushing's syndrome. Diagnosis and surgical management.
Ann Surg 1989; 210 Suppl 1:59-68.
131. Philipps AF, McMurthy Rj, Tambruman J.
Malignant pheochromocytoma in childhood.
Am J Dis Child 1976;130:1252-1255.
132. Poliak M, Horky-K; Kopecka-J; Gregora I, Dvrakova J.
The effect of clonidine on humoral factor in patient with arterial hypertension.
Cas lek Cesk. 1990;129 Suppl 10:301-5.
133. Puy LA, Ciocca DR.
Human pharyngeal and sellar pituitary glands. Differences and similarities revealed by an immunocytochemical study.
J Endocrinol 1986;108:231-238.
134. Quiseel B, Mohammed A, Barner JH, Hekani N.
Malignant pheochromocytoma in childhood: Report of a case with familial neurofibromatosis
Med Pediatr Oncol 1979;7:327-33.
135. Racz K, Pirret F, Gasc JM, Guyene TT, Corrol P.
Coexpression of renin, angiotensinogen and their messenger ribonucleic acids in adrenal tissues.
J Clin Endocrinol Metab 1991;75:730-7.

136. Rindig, Buffar, Sessa F, Tortora O, Solcia E.
Chromogranin A, B and C immunoreactives of mammalian endocrine cells. Distribution, distinction from costored hormones/prohormones and relationship with the argyrophil component of secretory granules.
Histochemistry 1986; 85:19-28.
137. Robin S.L.
Medula suprarrenal. Feocromocitoma. Saunders editores. 2nd edición. Patología estructural y funcional.
Interamericana 1984; 1299-34
138. Roncalli M, Springall JM, Vardell I.
Oncoprotein immunoreactivity in human endocrine tumours.
J Pathol 1991; 163:117-127.
139. Samaan NA, Hickey RC, Shutts PE.
Diagnosis, localization and management of pheochromocytoma.
Cancer 1988; 62: 2.451-2.460.
140. Sackel SG, Mansen JE, Harawi SS, Burakoff R.
Watery diarrhea syndrome due to an adrenal pheochromocytoma secreting vasoactive intestinal polypeptide
Dig Dis Sci 1985; 30:1201-1207.
141. Saeger-W; Reincke-M; Scholz-GH; Ludecke-DK.
Ektop ACTH oder CRH-bildende Tumoren mit Cushing-Syndrom.
Zentralbl Pathol 1993; 139 Suppl 2:157-63.
142. Said SI.
Vasoactive Intestinal Peptide. En Said editores. *Immunochemistry*.
New York, Raven Press 1982; 230-235.
143. Said S, Mult V.
Potent peripheral and splanic vasodilator peptide from normal gut.
Nature 1970; 225:863-8.
144. Sano T, Saito H, Yamasaki R.
Production and secretion of immunoreactive growth hormone-releasing factor by pheochromocytoma
Cancer 1986; 57:1788-1793.
145. Sano T, Saito H, Inabach, Hizawa K, Saito S, Yamanoi A.
Immunoreactive somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide in adrenal pheochromocytoma and immunochemical and ultrastructural study.
Cancer 1983; 52:282-289.

146. Sano T, Vrotankis ME, Kovacs K.
Galanin immunoreactivity in neuroendocrine tumors
Arch Pathol Lab Med 1991;115:926-929.
147. Schaffer MS, Zuberbubler P, Wilson G.
Catecholamine cardiomyopathy: An unusual presentation of pheochromocytoma in children.
J Pediatr 1991;99:276-79.
148. Schmechel D, Marangos PJ, Brightmann.
Neurons specific enolase is a molecular marker for peripheral and central neuroendocrine cells
Nature 1978;276:834-6.
149. W Schmid B, Dock Hou-Dwornezak, A. Fahrenkaum, R-Kuchman, W. Bocker & H Winkler.
"Chromogranin A, secretogranin II and vasoactive intestinal peptide in pheochromocytomas and ganglioneuromas".
Histopathology 1993;22:527-533.
150. Sclafani LH, Woodruff JM, Brenman MF.
Extraadrenal retroperitoneal paragangliomas Natural History and response to treatment.
Surgery 1990; 108:1124-1130.
151. Seshi B; Thie L, Carter D, Rosai J.
Selective localization of neurospecific enolase (NSE) in normal and neoplastic neural tissues demonstrated with a set of monoclonal antibodies.
Lab Invest 1987:56-71.
152. Settleman J, Nolan J, Angeletti RH.
Chromogranin an integral membrane protein.
J Biol Chem 198;260:1641-4.
153. Sherwin R.P.
Present status of the pathology of the adrenal gland in hypertension.
Am J Surg 1964;107:136-143.
154. Shimbos, Nakanoy.
A case of malignant pheochromocytoma producing parathyroid hormone-like substance
Celal Tissue Res 1974;15:155-156.
155. Shiomoni, Hirawe, Tawasaki.
Functional atrial natriuretic peptide receptor in human adrenal tumor.

J Cardiovasc Pharmacol 1989;13 Suppl. 6:9-12.

156. Sikriwl,Varndell IM,Hamdqa.

Medullary carcinoma of the thyroid:An immunocytochemical and histochemical study of 25 cases using eight separate markers.

Cancer 1985;56:2481-91.

157. Slamon DJ, Clark G M, Wong S G, Levin WJ, Ulrich A, McGuire WL.

Human breast cancer:correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene.

Science 1987;224: 256-262.

158. Spark RE,Comam PB,Glucki DS,White R,Sacks B,Landsberg L.

ACTH secretion form a functioning pheochromocytoma.

N Engl J Med 1979;301:416-8.

159. Stackpole RH,Mehcow MM y Uson A.C.

Pheochromocytoma in children.Report of 9 cases and review of the first 100 published cases with follow_up studies.

J Pediatr 1963; 63:315-330.

160. Stenberg.

Adrenal gland.Stenberg editores. Textbook of Surgical Pathology.

Interamericana 1992:214-215.

161. Stringel,En SH,Creighton R.

Pheochromocytoma in children.An update

J Pediatr Surg 1980;15:496-500.

162. Swinton NW Jr,ChikinE,Flunt LD.

Hypercalcemia and familial phaeochromocytoma:correction after adrenalectomy

Ann Intern Med 1972;76:455-457.

163. Talpos GB, Jackson CE,Yolt JB, van Dyke DL.

Phenotype mapping of the multiple endocrine neoplasia type II syndrome

Surgery 1983;94:650-654.

164. ThesleffP, Benoni C, Marthensson H.

A mixed endocrine adrenal tumor causing steatorrhea.

Gut 1987;28:1298-1301.

165. Tischler A.S.and Greene LA.

Phenotypic plasticity of pheochromocytomas and normal adrenal medullary cells. *Histochemistry and cell biology of Autonomic Neurons, SIF cells and paranovis.* Franko O, Saiule S and Panvanita H. Editores. New York. Raven Press, 1980:61-63.

166. Tischler A S, Mobtaker H, Kwan P W L, Jason W J, DeLellis RA, Wolfe HJ.
Hypertrophy of pheochromocytoma cells treated with nerve growth factor and activators of adenylate cyclase. *Cell Tissue Res* 1987;249: 161-169.

167. Tischler AS, Lee YC, Palmann RL
Production of ectopic vasoactive intestinal peptide-like and neurotensin-like immunoreactivity in human phaeochromocytoma cells clusters. *J Neurosci* 1984;4:1398-1404.

168. Tischler AS, Dayal Y, Balogh K, Cohen RB, Connolly JL, Tallberg K.
The distribution of immunoreactive chromogranins protein S-100 y peptide intestinal vasoactiva (VIP) in tumors of adrenal medulla *Hum Pathol* 1987;18:909-917.

169. de la Torre JC and Surgeon JW.
A methodological approach to rapid and sensitive monoamine histofluorescence using a modified glyoxylic acid technique: The SPG method. *Histochem* 1976;49:81-93.

170. Trump DL, Livingstone JN, Bayln SB.
Watery diarrhea syndrome and adult with ganglioneuroma- pheochromocytoma: Identification of vasoactive intestinal peptide, calcitonin and catecholamines and assesment of then biologic activity. *Cancer* 1977;40:1526-1532.

171. Unger P, Hoffmann K, Perrtsenlidin D .
S100 proteins positive sustentacular cells in malignant and locally agresive adrenal phaeochromocytoma *Arch Path Lab Med* 1991;115:484-487.

172. Unger PD, Hoffmann K, Thurg SN .
HMB-45 reactivity in adrenal phaeochromocytomas. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116:151-153.

173. Varndell IM, Tapia FJ, De My J.
Electron immunocytochemical localization of enkephalin-like matenl in catecholamine containing cells of the carotid body, the adrenal medulla and in phaeochromocytomas of man and other mammals *J Histochem Cytochem* 1982;30:682-690.

174. Verner JV, Morrison AB.
Non B islet tumors and a syndrome of refractory diarrhea, hypokaliemia and hypochlorhydria.
Clinic Gastroenterol 1974;3:595-608.
175. Van Vliet PD, Burchell HB, Titus JL.
Focal myocarditis associated with pheochromocytoma.
N Engl J Med 1966;274:1102-1108.
176. Wander JV and DAS Gupton TK.
Neurofibromatosis.
Curr Pobl Surg 1977;14:1-81.
177. Weaver JC, Kawata N, Hinman FJR.
Renal cyst simulating pheochromocytoma.
Postgrad Med 1952;11:294-298.
178. Weiler R, Fischer-Collrier, Schmid KW.
Immunological studies on the occurrence and properties of chromogranin A and B and secretogranin II in endocrine tumors.
Am J Surg Pathol 1988;12:877-884.
179. White MC, Hickson BR.
Multiple paraganglioma secreting catecholamines and calcitonin with intermittent hypercalcaemia.
J Roc Med 1979;72:532-538.
180. Wiedenmann B, Huttner WB.
Synaptophysin and chromogranins secretogranins: Widespread constituents of distinct types of neuroendocrine vesicles and new tools in tumor diagnosis.
Virchows Arch (B) 1989;58:95-121.
181. Wiedenmann oB, Franke WW, Kulm C, Moll R, Gould VE.
Synaptophysin: A marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms.
Pro Natl Acad Sci 1986; 83:3500-4.
182. Wolf PL, Dickermann RC, Laugston JD.
Fibrosarcoma of the pulmonary artery masquerading as a pheochromocytomas
Am J Clin Pathol 1960;34:146-154.
183. Yamaketa-N, Sartoli M, Marcado Asis LB, Kitade M, Morita-H, Yasuda-K.
Asymptomatic adrenal tumors; 386 cases in Japan including on 7 cases.
Endocrinol Jpn 1990; 37 Suppl 5:671-84.

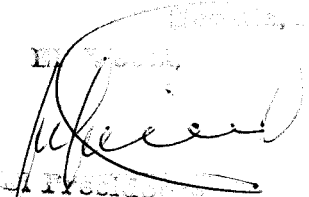
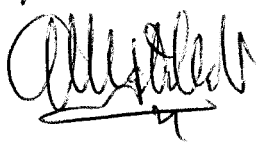
184. Yanase T, Nawata H, Kato KI, Ibayashi H.
Preproenkephalin beta derived opioid peptides in human pheochromocytomas
Acta Endocrinol (Copenh) 1987;114:446-451.
185. Zabel M.
Studies on localization of calcitonin gene related peptide (CGRP) in the thyroid-parathyroid complex.
Virchows Arch Pathol Anat 1987;411:569-73.
186. Castilla-Guerra L., Moreno A.M., Fernández E, Utrilla J.C., Galera-Davidson H.
Expression and prognostic value of c-erb-2 oncogene product in human pheochromocytomas
In press
187. L.M. Mulligan, B.A. J. Ponder
Genetic basis of endocrine disease
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1995; 80:1989-1993.

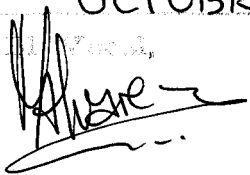
UNIVERSIDAD DE SEVILLA

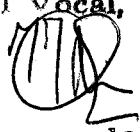
Reunido el Tribunal Superior por los abajo firmantes
en el día de la fecha, para juzgar el Tesis Doctoral de
D. ANGEL MANUEL MATEOS JA'ZQUEZ
titula VARIABILIDAD DE LA SECRECION HORMONAL DEL
FEOCROMOCITOMA, ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE

Sevilla, 15 de OCTUBRE 1996

El Vocal,

El Presidente,


El Vocal,

El Secretario,
M. Salguero

El Vocal,

El Doctorado,
