



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Instituto de Anatomia Patológica

Células folículo-estreladas da hipófise: Para onde evoluímos?

Maria José Marques Churro Nunes Pires

Outubro '2017



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Instituto de Anatomia Patológica

Células folículo-estreladas da hipófise: Para onde evoluímos?

Maria José Marques Churro Nunes Pires

Orientado por:

Dr. Francisco Tortosa

Outubro '2017

RESUMO

As células foliculo-estreladas (CFE) são uma população de células não-endócrinas, com uma morfologia *star-like* e com capacidade de suporte, que contribuem entre 5 a 10% como elementos celulares do lobo anterior da hipófise. Estas células foram inicialmente identificadas como não secretoras e acessórias através de microscopia eletrônica e muitas das características citológicas e fisiológicas através da microscopia ótica. O reconhecimento do marcador celular para a proteína S-100 que lhe confere positividade, permitiu que se atingisse um conhecimento vasto de muitas características das CFE. Atualmente, estas células são consideradas funcionalmente e fenotipicamente como heterogêneas. As células secretoras estão em estreita interligação com estas unidades funcionais agranulares através de uma rede endócrina interativa. A comunicação entre as CFE e as estruturas endócrinas mais próximas permite abrir uma porta para considerar a glândula hipofisária como um *puzzle* celular mais ordenado do que se julgava inicialmente. Depois de um longo período de investigação sobre a hipófise, muitas questões ainda não foram resolvidas. Apesar de muitos estudos morfológicos, citológicos e fisiológicos realizados recentemente, uma compreensão precisa das principais funções das CFE na glândula hipofisária ainda permanece desconhecida. Espera-se que novos estudos sobre a origem e a diferenciação das CFE forneçam muitas respostas relevantes em relação ao debate sobre a fisiopatologia da hipófise. Neste trabalho, fazemos uma revisão das características das CFE e suas funções incertas na adenohipófise, com um foco principal nos pontos atuais de pesquisa que consideramos fundamentais, como a sua importância enquanto células estaminais, no processo de maturação e envelhecimento e na patogénese dos tumores da hipófise.

Palavras-chave

Células foliculo-estreladas, Proteína S-100, Tumor da hipófise

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

ABSTRACT

Folliculo-stellate cells (FSCs) are a non-endocrine population of sustentacular-like, star-shaped and follicle-forming cells, which contribute about 5-10% of elements from the anterior pituitary lobe. First identified with electron microscopy as non-hormone secreting accessory cells, light microscopy has revealed many of their cytophysiological features, and is known as positive for S-100 protein, a marker for FSCs. They are currently considered as functionally and phenotypically heterogeneous. Secretory cells are in close interconnection with this agranular functional units in an interactive endocrine networking. Due to FSCs communication with their endocrine neighbours, this opens the door to considering the pituitary as a cellular puzzle more ordered than the first thought. After a long period of pituitary research, many issues remain unsolved. In spite of many morphological and cytophysiological studies recently reported, a precise understanding of the major functions of FSCs in the pituitary gland remains unknown. New studies about the origin and differentiation of FSCs are expected to provide many relevant answers with respect to the debate about physiopathology of the pituitary gland. Here we review the characteristics of FSCs and their uncertain functions in the adenohipophysis, with focus on the present research points that we consider fundamental, such as their importance as stem cells, in the process of maturation and aging, and in the pathogenesis of the pituitary tumors.

Keywords

Folliculo-stellate cells, S-100 protein, Pituitary tumor

ÍNDICE

| | Página |
|---|---------------|
| Resumo..... | 2 |
| <i>Abstract</i> | 3 |
| Lista de Abreviaturas..... | 5 |
| Introdução..... | 6 |
| Células adenohipofisárias não endócrinas - Células folículo-estreladas (CFE)..... | 8 |
| Morfologia..... | 8 |
| Funções..... | 10 |
| CFE - Células estaminais no adulto?..... | 11 |
| CFE e o processo de envelhecimento..... | 13 |
| CFE e adenomas hipofisários..... | 15 |
| Conclusão..... | 18 |
| Agradecimentos..... | 19 |
| Bibliografia..... | 20 |
| Figuras..... | 26 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - *Adrenocorticotropic hormone*

ADH - *Antidiuretic hormone*

AH - Adenomas hipofisários

AMCA - Péptido SS-Ala-Lys-Ne-AMCA

CE - Células estreladas

CEE - Células estaminais embrionárias

CF - Células foliculares

CFE - Células folículo-estreladas

FGF-2 - *Fibroblast Growth Factor*

FSH - *Follicle-stimulating hormone*

GFAP - *Glial fibrillary acid protein*

GH - *Growth hormone*

IL-6 - Interleucina-6

LH - *Luteinizing hormone*

OCF - Oncocitoma de células fusiformes

OMS - Organização Mundial de Saúde

PRL - Prolatina

S-100 - Proteína S-100

SNC - Sistema nervoso central

TSH – *Thyroid stimulating hormone*

VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor*

INTRODUÇÃO

A glândula hipofisária (hipófise) é um regulador endócrino complexo, pequeno mas fundamental do corpo humano. É um órgão intermediário das trocas de sinal entre o hipotálamo e os órgãos periféricos e possui importantes funções nos processos fisiológicos como o crescimento, a reprodução, o metabolismo e a resposta imunitária. Está localizada na *sella turcica*, tem anteriormente o tubérculo da sela e o quiasma ótico, posteriormente o dorso da sela e o tronco encefálico e superiormente o hipotálamo (1). Anatomicamente e funcionalmente, esta glândula possui dois lobos: a adenohipófise (hipófise anterior, dividida em duas regiões: *pars tuberalis* e *pars distalis*) que deriva da ectoderme e secreta hormonas, e a neurohipófise (hipófise posterior: *pars nervosa*) que deriva de axónios neuronais hipotalâmicos. Existe um terceiro lobo (*pars intermedia*), que é uma pequena zona avascular rudimentar e mal definida no ser humano (regreda na décima quinta semana de gestação e está ausente na glândula adulta).

A glândula hipofisária é constituída por células granulares produtoras de hormonas específicas, que atuam no controlo do crescimento (hormona do crescimento -GH-), na lactação (prolatina -PRL-), na função tiroideia (*Thyroid stimulating hormone* - TSH), na função adrenal (hormona adrenocorticotrópica -ACTH-) e na função gonadal (hormona folículo-estimulante -FSH- e hormona luteinizante -LH-) (2). Além disso, os neurónios que fazem parte da hipófise posterior secretam vasopressina (hormona antidiurética -ADH-) envolvida na manutenção do equilíbrio de água, e ocitocina, que desempenha funções na contração uterina e lactação. O *loop* de *feedback* negativo é o mecanismo básico para controlar o funcionamento de todas as glândulas endócrinas (3). Estas células hormonais (granulares) estão associadas com células não hormonais (agranulares), das quais as células folículo-estreladas (CFE) constituem o maior número (4).

As CFE são primariamente células não-endócrinas e acessórias, que constituem em 5-10% as células da hipófise anterior (5). Estas células não secretoras contribuem para a regulação e a manutenção da população de células hormonais, através da entrega de fatores estimulantes ou inibitórios do hipotálamo, assim como o transporte de produtos de secreção da glândula (6).

Desde a identificação das CFE até hoje, muitas características e funções foram reconhecidas. Neste trabalho, fazemos uma breve revisão às características das CFE e as suas funções incertas na adenohipófise, com foco nos presentes pontos de investigação que consideramos fundamentais, como a sua importância como *stem-cells*, no processo de maturação e envelhecimento e na patogênese de tumores da hipófise.

CÉLULAS ADENOHIPOFISÁRIAS NÃO-ENDÓCRINAS - CFE

Historicamente, o estudo das CFE na hipófise anterior remonta a mais de meio século. Já nos primeiros tempos da microscopia eletrônica, a hipófise anterior foi considerada um órgão interessante para estudos neste aparelho, e a natureza peculiar das CFE foi logo descoberta (5). Estas células foram inicialmente descritas em 1953 por Rinehart, *et al.*, contudo, foram originalmente designadas de células cromóforas pela ausência de afinidade do seu citoplasma a corantes (7). Desde o início do seu conhecimento que muitos aspetos das CFE foram investigados, e as células que inicialmente foram consideradas de estruturas simples têm escapado a um conhecimento real daquela que poderá ser a sua importância.

Morfologia

As primeiras células da hipófise anterior onde foi mostrado existir uma organização em rede e em larga escala foram as CFE (6). Em 1957, foi verificada a configuração interdigitada de muitas células na adenohipófise. As CFE foram relatadas e descritas como células *adrenocorticotroph-like* sem grânulos de secreção e dispostas em torno dos folículos (8). Em 1972, Vila Porcile baseado na sua morfologia *star-like* e na sua capacidade de formação de estruturas à volta dos ácinos, denominou estas células de folículo-estreladas (9).

Os folículos são encontrados ao longo da adenohipófise como lumens que são delimitados principalmente por células agranulares ou pouco granuladas unidas no seu ápex por complexos juncionais. Tradicionalmente, as células poligonais que circundam estes folículos, com processos citoplasmáticos longos foram denominadas de células foliculares (CF) (10). Elas coram com citoqueratinas e são frequentemente observadas em torno de áreas de necrose (11). Por outro lado, as células estreladas (CE) são um subtipo específico de células na glândula hipofisária humana normal com imunorreatividade para a proteína S-100 (S-100) (11-13). Estas células são agranulares e não apresentam imunorreatividade para as hormonas adenohipofisárias clássicas. Elas têm uma morfologia estrelar característica. Devido à confusão com as CF, alguns autores sugeriram que estas células deveriam ser chamadas de "células estreladas" (13).

Ambas foram consideradas estruturas de apoio para as células endócrinas, mas nem a sua origem nem o seu significado funcional são bem compreendidas (5,11,14,15).

Devido ao facto de as CFE serem células não endócrinas, a deteção imunohistoquímica utilizando um anticorpo contra uma hormona específica não pode ser utilizada. Este facto dificultou o estudo das CFE e atrasou a sua investigação em comparação com as células da hipófise produtoras de hormonas.

Muitas características das CFE permaneceram desconhecidas até que a S-100 fosse considerada um marcador celular (16). S-100 é uma proteína reguladora do fluxo de cálcio que foi isolada pela primeira vez no sistema nervoso central (SNC) (17). Na verdade, a S-100 tem sido uma poderosa ferramenta que permite a visualização das CFE ao microscópio ótico (16) (Figuras 1 e 2).

Estas células são também positivas para *glial fibrillary acid protein* (GFAP) sugerindo que as CFE possam representar uma célula tipo astrócito ou *microglia-like* (1). Vários autores citados por Perez-Castro, *et al.* (1), consideram esta hipótese, pelas capacidades fagocitárias e as funções de suporte *glia-like* dentro da glândula hipofisária, que estão envolvidas na regulação da homeostase de iões, transporte de água e proteção de danos causados por irradiação ou radicais livres. Foram feitos vários estudos usando contagens de células a fim de avaliar a especificidade destes marcadores imunohistoquímicos, mas foram encontradas inconsistências ao longo dos estudos, o que levou à ausência de um progresso real quanto à natureza e ao papel fisiológico das CFE.

Horvath e Kovacs (18) consideram que a S-100 e a GFAP são marcadores de CFE humana apenas em contextos limitados. Por conseguinte, os autores consideram que nenhum dos marcadores é adequado para a quantificação, e a sequência da expressão do segundo marcador não pode ser inequivocamente decidida pela morfologia celular. Sands, *et al.* (19) referem que a S-100 serve como fator de maturação neurotrófico e glial no SNC, e foi também detetada em alguns tipos de células da hipófise durante o crescimento fetal.

Outra forma de definir a sua expressão é através da absorção da fluorescência do péptido SS-Ala-Lys-Ne-AMCA (AMCA) por meio de bombas de protões específicas das células (20). Tirando partido da absorção seletiva de AMCA, foi possível confirmar a organização das CFE, numa rede anatómica 3D (9).

Funções

O estadió inicial de desenvolvimento e organização das CFE não foi exaustivamente investigado. Contudo, foram feitas observações nas CFE do adulto e foi demonstrado que formam uma rede excitável (21). Estudos imunohistoquímicos e ultraestruturais mostraram que as CFE formam uma rede dentro da adenohipófise em que as suas extensões celulares estão conectadas entre si mecanicamente e funcionalmente através de desmosomas e *gap junctions* (pequenos poros que permitem a troca intercelular de moléculas menores que 1,000 Da), respetivamente.

De acordo com Le Tissier, *et al.* (6) a excitabilidade intrínseca das CFE e a expressão da conexina 43, um marcador peptídeo de *gap junctions*, tanto entre si como com células endócrinas, sugere que as CFE podem desempenhar um papel na atividade de coordenação de conjuntos de células do sistema endócrino, a nível local ou distal, além de facilitarem através das *gap junctions* a transmissão do sinal de neurónios do hipotálamo que se projetam para a *pars tuberalis*. Uma outra função das CFE está relacionada com o facto da plasticidade funcional hipofisária poder ser inferida a partir da modificação do número de *gap junctions*, e a sua relação morfológica com células hormonais alteradas em resposta a alterações fisiológicas (6).

De forma a exercer diferentes funções, as CFE produzem uma gama de fatores de crescimento moduladores e modificadores da função das células hipofisárias endócrinas: a Interleucina-6 (IL-6) (22-24), o *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (25), o *Fibroblast Growth Factor* (FGF-2) (26) e a Anexina-1 (27), bem como expressarem recetores para hormonas hipofisárias (28), sugerindo uma função destas células, no mecanismo de “short-feedback loop”, além da modulação celular hormonal (6).

Evidência para a função das CFE também deve ser procurada a partir das semelhanças morfológicas que compartilham com astrócitos cerebrais, as células dendríticas no tecido linfático, as células de Langerhans da pele, as células sustentaculares na glândula adrenal e as células de Sertoli no testículo. Curiosamente, todas estas células são positivas para a proteína S-100 (4). Por exemplo, acredita-se que as células da medula adrenal e as células paraganglionares, ambas S-100 positivas, tenham um papel de suporte semelhante.

CFE - CÉLULAS ESTAMINAIS NO ADULTO?

Inoue, *et al.* (4) cita vários autores sobre a possibilidade das CFE serem um tipo de células estaminais com potencial de diferenciação em células endócrinas. Estudos desenvolvidos recentemente permitiram descrever uma população de células com as características de células estaminais na glândula hipofisária do rato adulto (29-31). Foi verificado que estas células podem ter capacidade de auto-renovação, e de se diferenciar em todos os tipos de células hormonais da adenohipófise (29,30). Contudo, o processo não é uniforme e verificou-se que no adulto, são identificadas células positivas ao fator de transcrição Sox2, (fator de transcrição essencial para manter a auto-renovação ou pluripotência das células estaminais), o que pode representar uma população distinta em relação ao embrião e ao recém-nascido (32), e são encontradas principalmente na fenda que separa o lobo anterior e intermédio mas também dispersas dentro do lobo anterior da glândula hipofisária (33). Há que realçar o facto de o fator de transcrição Sox2 ser expresso em todas as células da bolsa de Rathke, a estrutura que eventualmente dá origem à hipófise anterior (34).

A importância destas descobertas está relacionada com o facto de as células estaminais além da renovação das células da hipófise e resposta a alterações fisiológicas, também estão envolvidas na reparação de danos nas células desta glândula (35,36). A natureza dos sinais que orientam a sua proliferação e diferenciação em diferentes tipos de células não é clara. Um sistema *in vitro* para estudar a diferenciação de células estaminais em células da hipófise (37) tem proporcionado informação importante sobre os fatores necessários para o processo. Notavelmente, as células estaminais embrionárias (CEE) podem também ser induzidas a diferenciar-se em estruturas que tanto se assemelham à bolsa de Rathke, como têm a capacidade de produzir hormonas hipofisárias (37). A organização de células Sox2 positivas foi descrita (38), mostrando que as células que revestem a fenda têm a capacidade de manter contato com as células dispersas dentro do lobo. Esta organização sugere que a comunicação de longo alcance entre estas células estaminais putativas pode ser importante quer na determinação de vias de diferenciação, proliferação ou manutenção das características de células estaminais.

Nolan e Levy (39) através de estudos realizados em ratinhos sugerem que as células diferenciadas podem estar sensíveis ao tamanho da sua população e optar por se diferenciar em células estaminais, contudo todo o mecanismo ainda é incerto. Uma

hipótese interessante é que a organização da “network” é responsável pelo controlo da população celular e que a presença de populações múltiplas pode proporcionar um mecanismo para desencadear a diferenciação em células estaminais (6).

Até ao presente, vários estudos sustentam a existência de *stem cells* multipotentes na glândula hipofisária adulta, mas ainda não se sabe muito sobre a sua função e significado, porque nem todos estão em total concordância. Bilezikjian, *et al.* (14) e Vankelecom (40) supõem que as CFE poderão representar *stem cells* da adenohipófise.

De acordo com Vankelecom, *et al.* (41), vários tecidos adultos são capazes de regenerar células após a destruição por impacto físico ou químico, como no tecido muscular após lesão ou injeção de toxina. Em outros órgãos, envolvendo células estaminais é menos claro na reparação ou presente apenas sob certas condições, como no fígado devido a doença ou ataques químicos. Deve-se notar que existem muitos estadios de doença onde os tecidos são afetados e se não existir qualquer resposta de *stem cells*, eles podem não ser capazes de reparar completamente o tecido: as células estaminais neurais não são capazes de restaurar os danos de doença degenerativa (ex: doença de Parkinson) e as células estaminais cardíacas não suprimem o dano causado pelo enfarte do miocárdio. A hipófise do adulto apresenta capacidade de regeneração, mas os mecanismos e a contribuição das *stem cells* podem diferir pelo grau e pela natureza da condição e o tipo de célula afetada. De acordo com este autor, há questões que precisam de ser exploradas: esclarecer se esses processos também ocorrem nas condições de doença hipofisária (ex: Síndrome de Sheehan, hipofisite) ou após dano tecidual por resseção ou irradiação (41). Embora seja considerada pelos autores a significância funcional das células na homeostase das *stem cells* da hipófise adulta, a potencial recuperação de uma lesão, e os défices da patogénese do tumor endócrino não foram formalmente estabelecidas. As CFE são encontradas em grande número na periferia da adenohipófise comprimida por adenomas e outras lesões hipofisárias, como abscessos e depósitos amiloides, e na hipófise residual após a cirurgia, mas não adjacentes a depósitos de tumores metastáticos, enfartes ou quistos da fenda de Rathke (42), o que poderia explicar o facto de que a adenohipófise não sofre regeneração após enfarte parcial ou resseção.

CFE E O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO

Alguns investigadores supõem que as CFE podem estar envolvidas em processos tróficos e catabólicos e no transporte de macromoléculas. Estudos realizados indicaram que as CFE podem servir para modular a produção e secreção de hormonas na hipófise anterior através de ações parácrinas locais (15,43). Para tal, as interdigitações e as células produtoras de hormonas podem suportar a presença da comunicação intercelular. Herkenham (44) sugere uma função para as CFE em comunicação recíproca entre os sistemas imunológico e endócrino. Este autor considera que a origem destas células intersticiais da adenohipófise não secretoras de hormonas, pode ser de natureza neuroectodérmica e também possivelmente glial, de acordo com a expressão dos seus marcadores (44). Por outro lado, as suas capacidades fagocíticas, a secreção de IL-6, e o facto de que elas compartilham algumas características imunohistoquímicas, ultraestruturais e funcionais com células dendríticas linfoides, sugere que provavelmente a sua subpopulação pode ser derivada a partir de uma linhagem de células dendríticas mieloides (precursoras diretas dos macrófagos) (45). As CFE agem como fagócitos dos restos celulares e corpos apoptóticos, o que suporta um certo grau de relação entre as CFE e as células do sistema fagocítico mononuclear (44,46).

Embora a hipófise anterior seja muito importante para a manutenção da homeostasia do corpo humano, os estudos sobre as suas modificações estruturais, durante o processo de envelhecimento são escassas. Sano, *et al.* (47) descreveram algumas dessas mudanças, avaliando as alterações relacionadas com a idade através da análise do tecido conetivo da adenohipófise e de células endócrinas utilizando uma análise histológica e métodos semi-quantitativos.

No entanto, há uma falta de dados na literatura sobre as alterações do envelhecimento nas CFE e os que foram realizados utilizaram recursos de origem animal, tendo obtido resultados controversos (48). Cónsole, *et al.* (49) avaliaram o número de células da adenohipófise S-100 positivas durante o processo de envelhecimento. Neste estudo foi demonstrada uma diminuição progressiva no número de CFE relacionada com a idade, em ratinhos velhos (20 meses) e senescentes (29 meses) em relação aos jovens (3 meses). A análise dos parâmetros morfométricos revelou uma diminuição significativa no seu volume e densidade celular nos ratinhos velhos e senescentes em comparação com os jovens em ambos os sexos.

Muitos dos estudos realizados encontraram várias formas, bem como a presença de vários níveis de CFE aumentados durante o período de vida pós-natal, enquanto alguns estudos mostraram o aumento das CFE relacionado com a idade (45).

Pavlovic, *et al.* (48) perante os resultados obtidos levantam a seguinte questão: Se existe um aumento com a idade, quais poderiam ser as possíveis causas e consequências para a função da adenohipófise? Com base nos dados da literatura, os autores realizaram um estudo que visou a quantificação das CFE nas amostras de hipófise anterior em diferentes idades, e de uma forma indireta tentaram estabelecer o seu possível impacto no funcionamento deste lobo da glândula durante o envelhecimento humano. Concluíram que as CFE aumentam a sua presença na adenohipófise humana durante o processo de envelhecimento. Contudo, este aumento só é significativo nos casos mais antigos, e talvez considerados em conjunto com as alterações relacionadas com a idade do sistema imunitário e caracterizadas por um estado inflamatório crónico de baixa qualidade e elevados níveis de citocinas sanguíneas presentes nestes casos. Estas condições podem estimular as CFE a proliferar e recorrerem às suas ações parácrinas nas células endócrinas da hipófise anterior e, finalmente, participarem em mudanças no envelhecimento do eixo hipotálamo-hipofisário. Por isso, as investigações futuras deverão incluir, além da quantificação de CFE, uma apropriada e simultânea análise bioquímica e/ou imunohistoquímica dos níveis dos seus produtos de função parácrina, nos casos estudados com diferentes idades.

CFE E ADENOMAS HIPOFISÁRIOS

Os tumores hipofisários são frequentes em humanos, podendo causar várias complicações patológicas como distúrbios do crescimento, disfunção sexual, infertilidade, obesidade, distúrbios metabólicos e desordens de humor (50). Os tumores podem surgir a partir de qualquer tipo de célula da hipófise anterior (2). Os adenomas hipofisários (AH) são bastante comuns e têm sido relatados a ocorrer em cerca de 15-20% da população geral, dos quais um terço é clinicamente significativo (51,52). A maior parte dos AH correspondem a neoplasias primárias que apresentam um crescimento lento e diversos comportamentos hormonais e proliferativos (50).

Podemos encontrar um vasto tipo de sintomas endócrinos resultantes da hipersecreção hormonal, contudo, por vezes o espaço ocupado pelo próprio tumor, particularmente os que crescem rapidamente originando uma massa intracraniana, podem causar outros problemas como a diminuição da secreção de algumas hormonas, distúrbios visuais, dores de cabeça e problemas de sono (2). Além da classificação clínica (funcional) e radiológica, podem também ser classificados histologicamente, o que permite definir melhor a natureza hormonal dos adenomas (53).

O mecanismo de progressão dos AH para tumores mais agressivos e invasivos ainda não está totalmente esclarecido e ainda não foi possível encontrar um marcador que permita auxiliar o clínico no seu prognóstico.

É neste ponto muito específico da patologia dos AH que Fauquier, *et al.* (54), referem as CFE, enquanto células de suporte, com uma densa rede e com funções determinantes na coordenação da atividade celular, como um fator determinante não só a nível fisiológico, mas também patológico.

Alguns autores indicam que existem certos tumores endócrinos (feocromocitomas ou paragangliomas) onde a redução ou ausência dessas células sustentaculares indica um pior prognóstico do que quando estão presentes, o que é sugestivo de seu potencial metastático (55,56). Mas aqui, mais uma vez, os resultados não são consistentes.

Recentemente, um estudo realizado por Tortosa, *et al.* (57) teve como objetivo analisar a expressão das CFE, mediante imunomarcagem com S-100, numa série de doentes com AH seguidos durante pelo menos sete anos. Tratou-se de um estudo retrospectivo realizado no Departamento de Anatomia Patológica do Centro Académico de Medicina de Lisboa, com 51 doentes diagnosticados com AH que se submeteram a cirurgia da

hipófise pela mesma equipa de neurocirurgiões desse centro, entre os anos de 2006 e 2008. Os tumores foram removidos por via endonasal trans-esfenoidal e cada doente foi seguido por um tempo mínimo de sete anos depois da cirurgia com o objetivo de avaliar o índice de recorrências. O diagnóstico final dos doentes baseou-se na clínica e nos resultados histopatológicos da amostra pós-cirúrgica, e os tumores foram classificados segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) (58). No estudo foi feita uma avaliação imunohistoquímica através da expressão da S-100 em CFE, e foi feita uma correlação com os parâmetros clínicos, radiológicos e histopatológicos do tumor e a sua progressão/recorrência pós-operatória. Os resultados obtidos demonstraram que dos 51 tumores, 40 classificaram-se como AH típicos e 11 como atípicos. A maioria dos tumores típicos mostrou CFE positivas para S-100 (Figura 3) e os atípicos tinham poucas ou nenhuma célula S-100 positiva. A exceção foram os adenomas não funcionantes imunopositivos para prolactina, com a média mais baixa e mais alta de todos os subtipos em ambos grupos (típicos, 0,25%, frente a “atípicos”, 9,24%; $p = 0,0028$) (Figuras 4 e 5). Assim, com este estudo, verificou-se que o valor preditivo de agressividade tumoral para AH, não está representado por um baixo valor de S-100 positivo em CFE, o que não permite colocar a hipótese de selecionar determinados doentes para um tratamento pós-operatório intensivo. Este estudo mostra que o índice de marcação para a proteína S-100 não pode ser utilizado como um fator de prognóstico de comportamento agressivo para os tumores hipofisários, já que a expressão de CFE não se correlacionou com a idade e o sexo do doente, o tamanho do tumor, o grau de invasão tumoral, a compressão das estruturas anatómicas em redor da *sella turcica* ou a progressão/recorrência (57).

Realçando que uma parte não negligenciável dos AH não é, em última análise, suscetível de cura por farmacoterapia convencional ou cirurgia, talvez as CFE possam oferecer algumas soluções na sua patogénese.

A realçar uma menção especial para o oncocitoma de células fusiformes (OCF), um tumor incomum e controverso. Trata-se de uma neoplasia fusiforme/epitelióide, oncócica e não neuroendócrina da glândula hipofisária (59). Foi relatado pela primeira vez em 2002 por Roncaroli (60), que propôs que a origem deste tumor estava nas CFE da hipófise anterior. Até a data, a histogénese do OCF permanece sem solução. Inicialmente, uma derivação de CFE da adenohipófise foi postulada com base no perfil imunofenotípico (em particular a expressão de galactina-3 e anexina A1) e

características ultraestruturais. Contudo, a descoberta de que não só os pituicitomas, mas também os tumores de células granulares da região selar e OCF expressam o fator de transcrição nuclear TTF1, como os pituicitos da neurohipófise em desenvolvimento e matura, sugere uma derivação pituicitária (61). Assim, a diferença entre este tumor e o pituicitoma, que é atribuído às células do estroma do lobo posterior, não é clara.

CONCLUSÃO

As CFE são células acessórias não secretoras de hormonas que têm um papel importante na integração da informação sobre os circuitos auto/parácrinos da hipófise anterior. Assim, esta rede de células dentro da hipófise poderia ter um papel privilegiado na coordenação das atividades das células distantes em condições fisiológicas e patológicas. Contudo, o papel fisiopatológico da rede de CFE intrahipofisária para a regulação da hipófise anterior ainda é pouco compreendido. Após um longo período de investigação e pesquisa sobre a glândula hipofisária, existem evidências recentes que têm envolvido as CFE no funcionamento da adenohipófise, com múltiplas funções na regulação parácrina, remodelação celular e *crosstalk* neuroimune. No entanto, muitas questões permanecem sem solução. Espera-se que novos estudos sobre a origem e diferenciação das CFE forneçam várias respostas em relação ao debate sobre a fisiopatologia desta glândula.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, o Dr. Francisco Tortosa. O meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho, pela sua orientação, total apoio e disponibilidade, pelo saber que me transmitiu e por todas as palavras de incentivo que conduziram à concretização deste projeto de investigação académica. Mas também por sempre ter acreditado em mim, pelo testemunho de rigor científico que sempre imprimiu e do qual tanto desejamos aproximar-nos.

Uma palavra de agradecimento a todos quantos disponibilizaram tempo e paciência para colaborarem na concretização deste trabalho e que me ajudaram a concluí-lo.

Por último, à minha família, porque a sua existência e o orgulho que sempre demonstraram, minora todas as dificuldades sentidas e multiplica a sensação de gratidão decorrente dos objectivos alcançados com sucesso. Muito Obrigada!

BIBLIOGRAFIA

1. Perez-Castro C., Renner U., Haedo M.R., Stalla G.K. and Arzt E. (2012) Cellular and Molecular specificity of pituitary gland physiology. *Physiol Rev* 92:1-38.
2. Yeung C.M., Chan C.B., Leung P.S. and Cheng C.H. (2006) Cells of the anterior pituitary. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38:1441-1449.
3. Mihai R. (2014) Physiology of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Surgery* 32:10.
4. Inoue K., Couch E.F., Takano K. and Ogawa S. (1999) The structure and function of folliculo-stellate Cells in the anterior pituitary gland. *Arch Histol Cytol* 62(3):205-218.
5. Allaerts W. and Vankelecom H. (2005) History and perspectives of pituitary folliculo-stellate cell research. *European Journal of Endocrinology* 153:1-12.
6. Le Tissier P.R., Hodson D.J., Lafont C., Fontanaud P. and Schaeffer M. (2012) Anterior pituitary cell networks. *Frontiers in Neuroendocrinology* 33:252-266.
7. Rinehart J.F. and Farquhar M.G. (1953) Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 1:93-113.
8. Farquhar M.G. (1957) 'Corticotrophs' of the rat adenohypophysis as revealed by electron microscopy. *Anatomical Record* 127:291 (Abstract).
9. Vila-Porcile E. (1972) The network of the folliculo-stellate cells and the follicles of the adenohypophysis in the rat (pars distalis). *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 129:328-369.
10. Horvath E., Kovacs K., Penz G. and Ezrin C. (1974) Origin, possible function and fate of "follicular cells" in the anterior lobe of the human pituitary. *Am J Pathol* 77:199-212.
11. Yamashita M., Qian Z.R., Sano T., Horvath E. and Kovacs K. (2005) Immunohistochemical study on so-called follicular cells and folliculo-stellate cells in the human adenohypophysis. *Pathol Int* 55:244-247.
12. Hofler H., Walter G.F. and Denk H. (1984) Immunohistochemistry of folliculo-stellate cells in normal human adenohypophyses and in pituitary adenomas. *Acta Neuropathol* 65:35-40.
13. Girod C., Trouillas J. and Dubois M.P. (1995) Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of the anterior lobe of the normal human pituitary. *Cells Tissue Res* 241:505-511.

14. Bilezikjian L.M., Leal A.M., Blount A.L., Corrigan A.Z. and Turnbull A.V. (2003) Rat anterior pituitary folliculo-stellate cells are targets of interleukin-1 beta and a major source of intrapituitary follistatin. *Endocrinology* 144:732-740.
15. Acosta M., Filipa V. and Mohamed F. (2010) Folliculo-stellate cells in pituitary pars distalis of male viscacha: immunohistochemical, morphometric and ultrastructural study. *Eur J Histochem* 54:e1.
16. Devnath S. and Inoue K. (2008) An Insight to Pituitary Folliculo-Stellate Cells. *Journal of Neuroendocrinology* 20:687-691.
17. Moore B.W. (1965) A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Res Commun* 19:739-744.
18. Horvath E. and Kovacs K. (2002) Folliculo-stellate cells of the Human Pituitary: A Type of adult stem cell? *Ultrastructural Pathology* 26:219-228.
19. Sands S.A., Gary K.A. and Chronwall B.M. (1995) Transient expression of S-100 by melanotropes of the rat pituitary intermediate lobe during development. *Int J Dev Neurosci* 13(6):567-576.
20. Otto C., Tom Dieck S. and Bauer K. (1996) Dipeptide uptake by adenohypophysial folliculo-stellate cells. *Am J Physiol* 271:C210-C217.
21. Fauquier T., Guerineau N.C., McKinney R.A., Bauer K. and Mollard P. (2001) Folliculo-stellate cell network: a route for long-distance communication in the anterior pituitary. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:8891-8896.
22. Correa-de-Santana E., Frohlich B., Labeur M., Paez-Pereda M., Theodoropoulou M. et al. (2009) NOD2 receptors in adenopituitary folliculostellate cells: expression and function. *J Endocrinol* 203:111-122.
23. Gloddek J., Lohrer P., Stalla J., Arzt E., Stalla G.K. et al. (2001) The intrapituitary stimulatory effect of lipopolysaccharide on ACTH secretion is mediated by paracrine-acting IL-6. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109:410-415.
24. Lohrer P., Gloddek J., Nagashima A.C., Koralı Z., Hopfner U. et al. (2000) Lipopolysaccharide directly stimulates the intrapituitary interleukin-6 production by folliculo-stellate cells via specific receptors and the p38 alpha mitogen-activated protein kinase/nuclear factor kappaB pathway. *Endocrinology* 141:4457-4465.
25. Leung D.W., Cachianes G., Kuang W.J., Goeddel D.V. and Ferrara N. (1989) Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 246:1306-1309.

26. Amano O., Yoshitake Y., Nishikawa K. and Iseki S. (1993) Immunocytochemical localization of basic fibroblast growth factor in the rat pituitary gland. *Arch Histol Cytol* 56:269-276.
27. Theogaraj E., John C.D., Christian H.C., Morris J.F., Smith S.F. et al. (2005) Perinatal glucocorticoid treatment produces molecular, functional, and morphological changes in the anterior pituitary gland of the adult male rat. *Endocrinology* 146:4804-4813.
28. Brokken L.J., Leendertse M., Bakker O., Wiersinga W.M., Prummel M.F. (2004) Expression of adeno-hypophyseal-hormone receptors in a murine folliculo-stellate cell line. *Horm Metab Res* 36:538-541.
29. Chen J., Hersmus N., Van Duppen V., Caesens P., Deneef C. et al. (2005) The adult pituitary contains a cell population displaying stem/progenitor cell and early embryonic characteristics. *Endocrinology* 146:3985-3998.
30. Fauquier T., Rizzoti K., Dattani M., Lovell-Badge R. and Robinson I.C. (2008) SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:2907-2912.
31. Garcia-Lavandeira M., Quereda V., Flores I., Saez C., Diaz-Rodriguez E. et al. (2009) A GRFa2/Prop1/stem (GPS) cell niche in the pituitary. *PLoS ONE* 4:e4815.
32. Gleiberman A.S., Michurina T., Encinas J.M., Roig J.L., Krasnov P. et al. (2008) Genetic approaches identify adult pituitary stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:6332-6337.
33. Rizzoti K. (2010) Adult pituitary progenitors/stem cells: from in vitro characterization to in vivo function. *Eur J Neurosci* 32:2053-2062.
34. Kelberman D., Rizzoti K., Avilion A., Bitner-Glindzicz M., Cianfarani S. et al. (2006) Mutations within Sox2/SOX2 are associated with abnormalities in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in mice and humans. *J Clin Invest* 116:2442-2455.
35. Nolan L.A., Kavanagh E., Lightman S.L. and Levy A. (1998) Anterior pituitary cell population control: basal cell turnover and the effects of adrenalectomy and dexamethasone treatment. *J Neuroendocrinol* 10:207-215.
36. Ghasemi N. and Razavi S. (2014) Transdifferentiation potential of adipose derived stem cells into neural lineage and their application. *J Histol Histopathol* 1:12.

37. Suga H., Kadoshima T., Minaguchi M., Ohgushi M., Soen M. et al. (2011) Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. *Nature* 480:57-62.
38. Mollard P., Hodson D.J., Lafont C., Rizzoti K. and Drouin J. (2012) A tridimensional view of pituitary development and function. *Trends Endocrinol Metab* 23:261-269.
39. Nolan L.A. and Levy A. (2006) A population of non-luteinising hormone/non adrenocorticotrophic hormone-positive cells in the male rat anterior pituitary responds mitotically to both gonadectomy and adrenalectomy. *J Neuroendocrinol* 18:655-661.
40. Vankelecom H. (2007) Non-hormonal cell types in the pituitary candidating for stem cell. *Semin Cell Dev Biol* 18:559-570.
41. Vankelecom P. and Chen, J. (2014) Pituitary stems cells: Where do we stand? *Molecular and Cellular Endocrinology* 385:2-17.
42. Nishioka H., Llana J.F. and Hirano A. (1991) Immunohistochemical study of folliculo-stellate cells in the pituitary lesions. *Endocr Pathol* 2:155-160.
43. Vankelecom H. and Denef C. (1997) Paracrine communication in the anterior pituitary as studied in reaggregate cell cultures. *Microsc Res Tech* 39:150-156.
44. Herkenham M. (2005) Folliculo-stellate cells of the anterior pituitary mediate interactions between the endocrine and immune systems. *Endocrinology* 146:33-34.
45. Allaerts W., Salomon B., Leenen P.J., van Wijngaardt S., Jeucken P.H. et al. (1997) A population of interstitial cells in the anterior pituitary with a hematopoietic origin and a rapid turnover: a relation-ship with folliculo-stellate cells? *J Neuroimmunol* 78:184-197.
46. Vankelecom H., Matthys P., Van Damme J., Heremans H., Billiau A. et al. (1993) Immunocytochemical evidence that S-100-positive cells of the mouse anterior pituitary contain interleukin-6 immunoreactivity. *J Histochem Cytochem* 41:151-156.
47. Sano T., Kovacs K.T., Scheithauer B.W. and Young Jr W.F. (1993) Aging and the human pituitary gland. *Mayo Clin Proc* 68:971-977.
48. Pavlovic M., Jovanovic I., Ugrenovic S., Vasovic L., Krstic M. et al. (2013) Morphometric analysis of the human anterior pituitary's folliculo-stellate cells during the aging process. *Annals of Anatomy* 195:231-237.

49. Cónsole G.M., Jurado S.B., Riccillo F.L. and Gómez Dumm C.L. (2000) Immunohistochemical and ultrastructural study of pituitary folliculo-stellate cells during aging in rats. *Cells Tissues Organs* 167:25-32.
50. Asa S.L. and Ezzat S. (2002) The pathogenesis of pituitary tumours. *Nature Reviews Cancer* 2:836-849.
51. Asa, S.L. and Ezzat S. (1998) The cytogenesis and pathogenesis of pituitary adenomas. *Endocrine Reviews* 19:798-827.
52. Ezzat S., Asa S.L., Couldwell W.T., Barr C.E., Dodge W.E., Vance M.L. and McCutchen E. (2004) The prevalence of pituitary adenomas: a systematic review. *Cancer* 101(3):613-619.
53. Tortosa F. and Webb S.M. (2017) Novel aspects in histopathology of the pituitary gland. *Endocrinología y Nutrición* 64(3):152-161.
54. Fauquier T., Lacampagne A., Travo P., Bauer K. and Mollard P. (2002) Hidden face of the anterior pituitary. *Trends Endocrinol Metab* 13(7):304-309.
55. Unger P., Hoffman K., Pertsemlidis D., Thung S., Wolfe D. et al. (1991) S100 protein-positive sustentacular cells in malignant and locally aggressive adrenal pheochromocytomas. *Arch Pathol Lab Med* 115(5):484-487.
56. van der Harst E., Bruining H.A., Jaap Bonjer H., van der Ham F., Dinjens W.N. et al (2000) Proliferative index in pheochromocytomas: does it predict the occurrence of metastases? *J Pathol* 191(2):175-180.
57. Tortosa F., Pires M. and Ortiz S. (2016) Prognostic implications of folliculo-stellate cells in pituitary adenomas: relationship with tumoral behavior. *Rev Neurol* 63(7):297-302.
58. Lloyd R.V., Kovacs K., Young W.F. Jr, Farrel W.E., Asa S.L., Trouillas J. et al. Tumours of the pituitary gland. In: DeLellis R.A., Lloyd R.V., Heitz P.U., Eng C. Ed. *World Health Organization Classification of Tumours of Endocrine Organs*. Lyon, France:IARC Press; 2004; 9-47.
59. Lopes M.B.S., Fuller G.N., Roncaroli F. and Wesseling P. Spindle cell oncocytoma. In:Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K. Ed. *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*. Lyon, France:IARC Press; 2016; 334-336.
60. Roncaroli F., Scheithauer B.W., Cenacchi G., Horvath E., Kovacs K. et al. (2002) Spindle cell oncocytoma of the adenohypophysis: a tumor of folliculo-stellate cells? *Am J Surg Pathol* 26:1048-1055.

61. Mete O., Lopes M.B. and Asa S.L. (2013) Spindle cell oncocytomas and granular cell tumors of the pituitary are variants of pituicytoma. *Am J Surg Pathol* 37:1694-1699.

FIGURAS

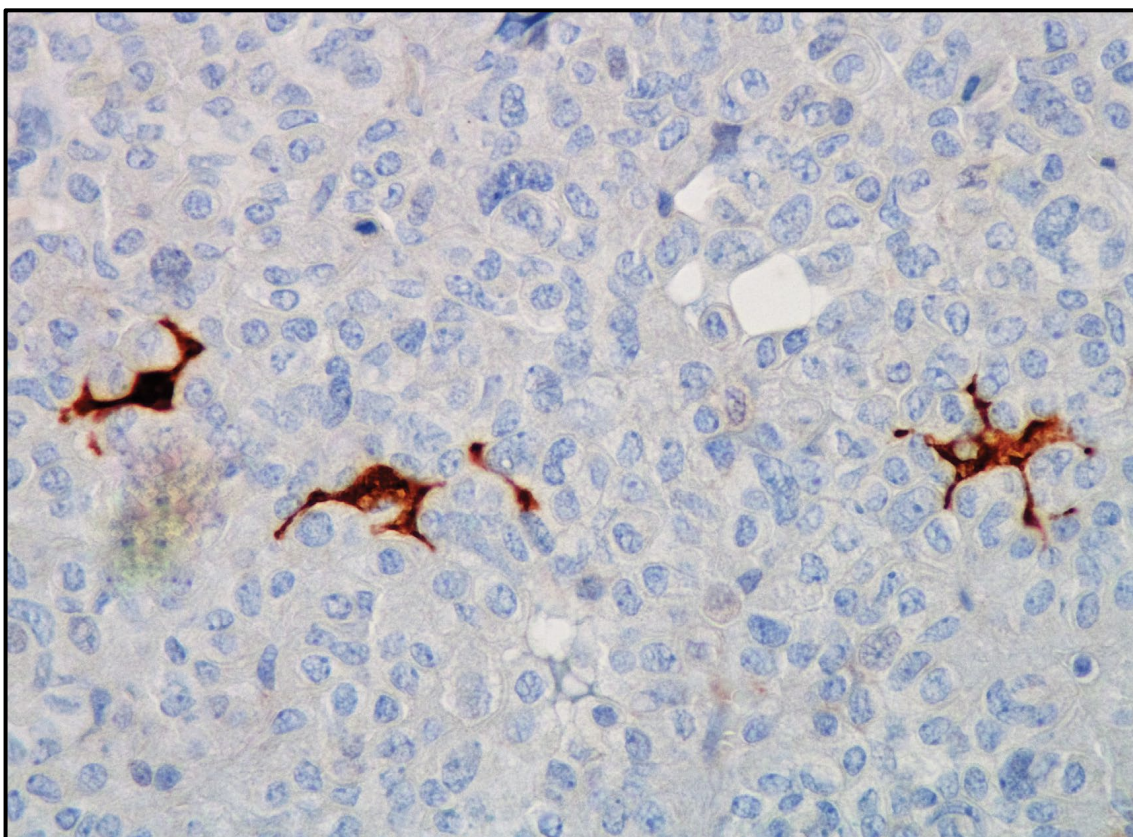


Figura 1 - Células foliculo-estreladas imunorreativas para a proteína S-100 (S-100, x400).

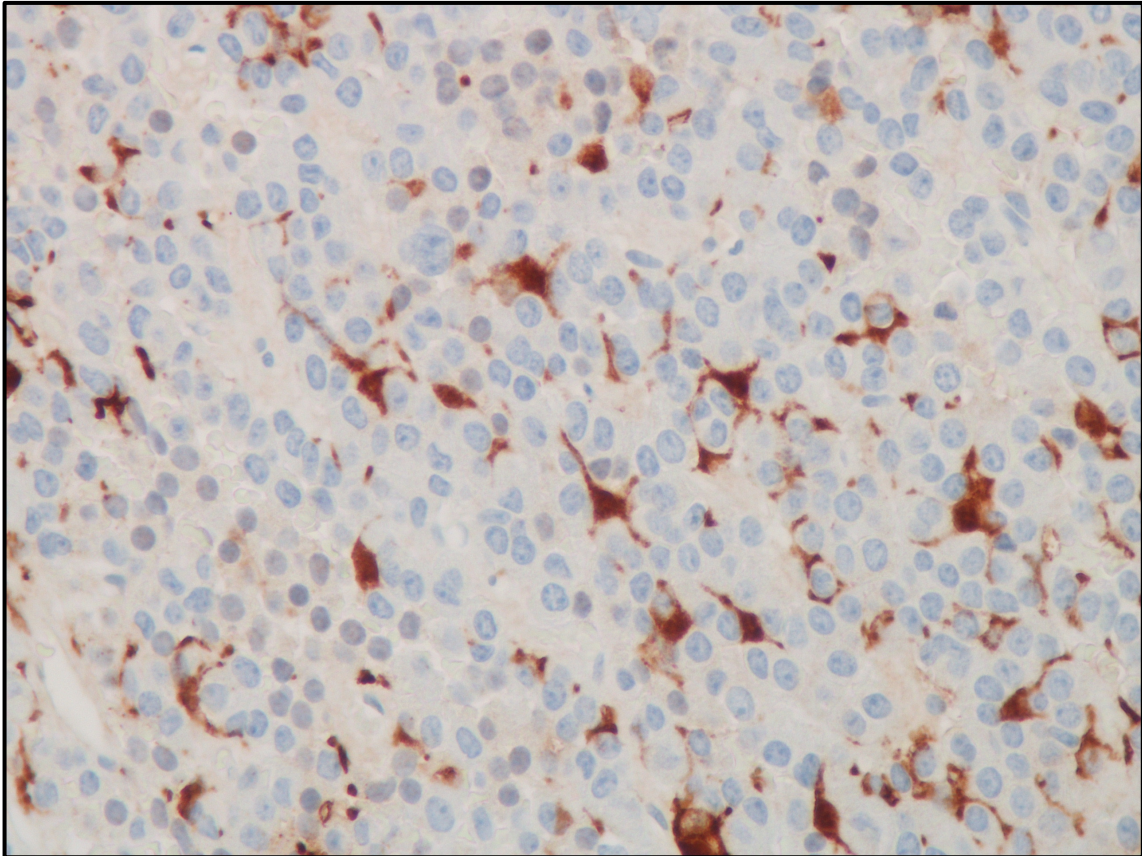


Figura 2 - Células foliculo-estreladas imunorreativas para a proteína S-100 (S-100, x400).

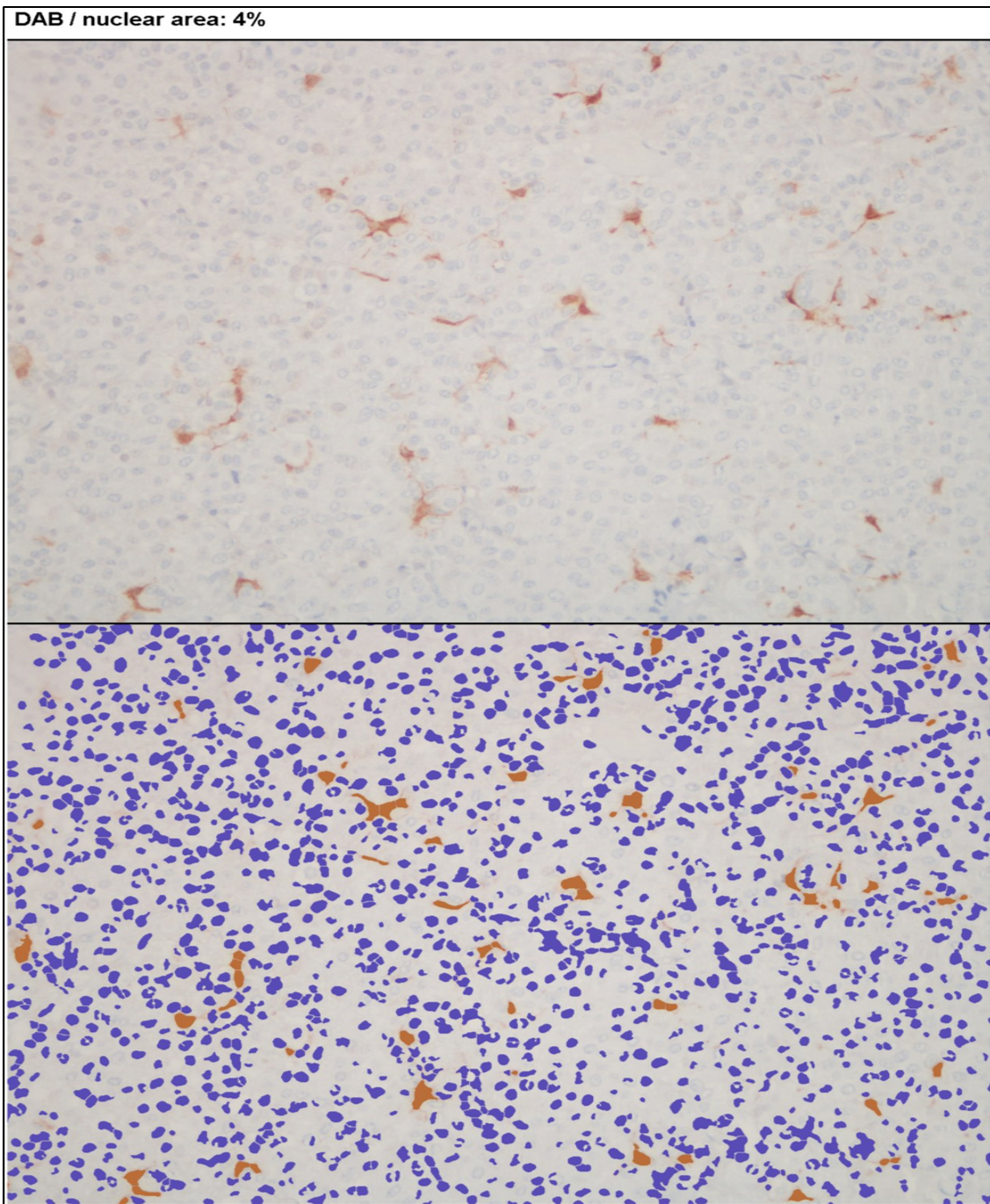


Figura 3 - Imagens microscópicas de um macroadenoma hipofisário típico secretor de hormona de crescimento e prolactina num doente com acromegalia. a) A técnica imunohistoquímica (usando um anticorpo contra a proteína S-100) demonstra um moderado número de células foliculo-estreladas no tumor (4%, S-100, 200x); b) Com um programa processador de imagem, evidencia-se a proporcionalidade destas células (a castanho) relativamente às células tumorais (núcleos com cor azul) (Image J, ImmunoRatio plugin).

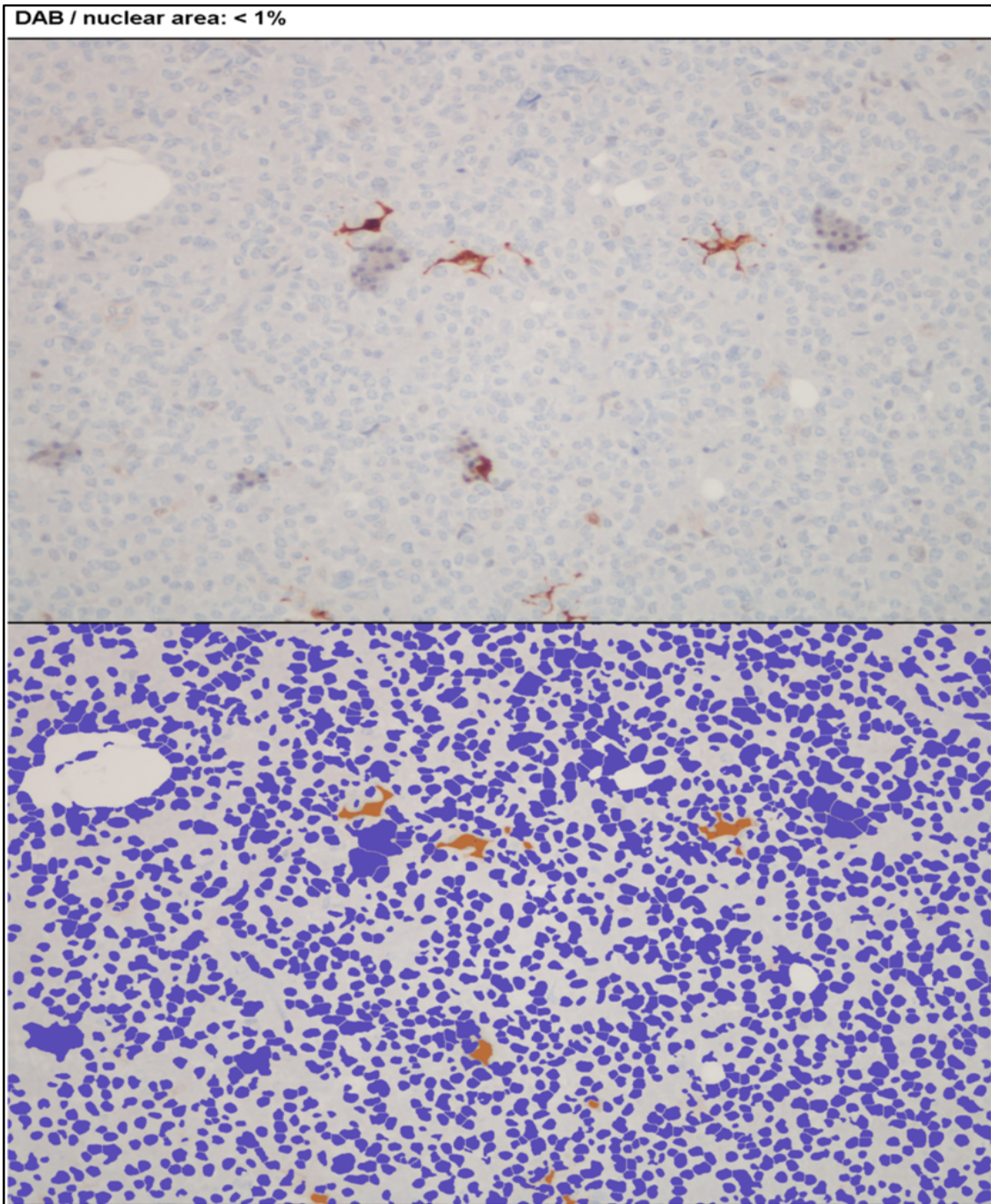


Figura 4 - Imagens microscópicas de um macroadenoma hipofisário típico não secretor positivo para prolactina. a) A técnica imunohistoquímica para a proteína S-100 expressa a escassez de células foliculo-estreladas no tumor (<math>< 1\%</math>, S-100, 200x); b) Evidencia-se a proporcionalidade destas células dentro do tumor (Image J, ImmunoRatio plugin).

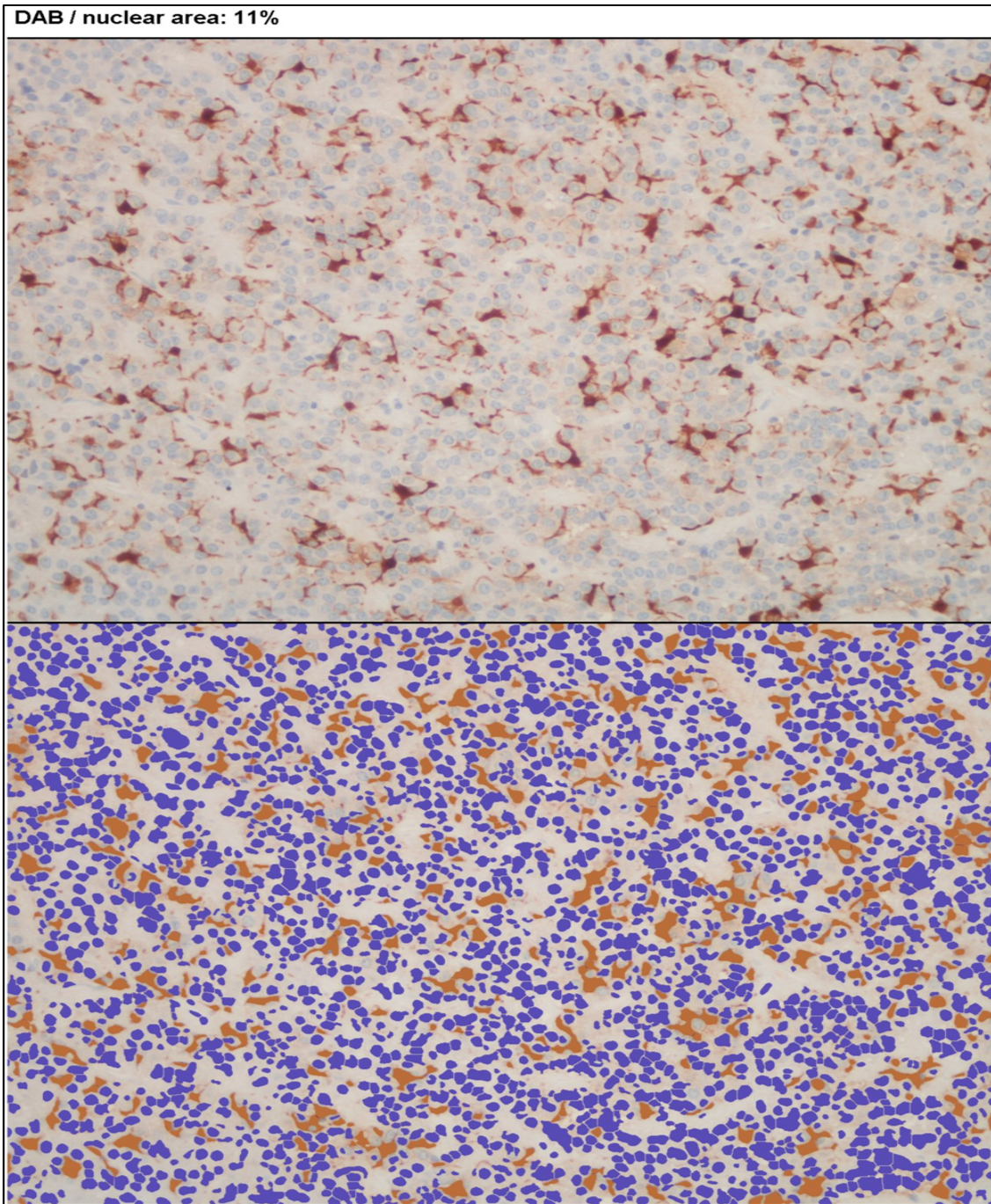


Figura 5 - Imagens microscópicas de um adenoma hipofisário atípico não funcionante com positividade imunohistoquímica para prolactina. a) A técnica imunohistoquímica para a proteína S-100 assinala um elevado número de células folículo-estreladas no tumor (11%, S-100, 200x); b) Evidencia-se a proporcionalidade destas células dentro do tumor (Image J, ImmunoRatio plugin).