

---

**MORFOLOGIA DOS TUMORES DE HIPOFISE EM RATOS**

*H. D. MENNEL \**  
*J. BÜCHELER \**  
*L. M. BARBOSA COUTINHO \*\**  
*W. WECHSLER \**  
*K. J. ZULCH*

Os hormônios influem sobre o crescimento tumoral, podendo apresentar ação inibidora ou favorecedora que pode ser utilizada terapeuticamente. Essa influência pode ser observada, no homem, especialmente nos tumores de órgãos sexuais, tanto primários como secundários, que, sob a ação dos hormônios, podem proliferar ou deter o seu crescimento. Um primeiro exemplo é a observação de que há regressão dos tumores de mama após ooforectomia<sup>1</sup>. Esses tumores que sofrem evidente influência hormonal no seu crescimento foram reunidos no grupo dos tumores "hormônio-dependentes".

Muitos achados sobre o mecanismo de ação dos hormônios originaram-se de pesquisas em animais. Em ratos foi estudada, especialmente, a ação dos estrógenos e da prolactina sobre os tumores de mama; a prolactina parece ter forte efeito proliferativo, enquanto que os estrógenos possuem ação mais fraca e menos evidente. Todavia há, nos exemplos de tumores de mama, a noção sobre a hormônio-dependência a nível sub-celular<sup>1,3</sup>.

Pertencem também ao grupo dos tumores hormônio-dependentes, aqueles tumores de hipófise, encontrados em ratos. Em 1936, McEuen e col.<sup>8</sup> puderam desenvolver em ratos, mediante a administração de estrógenos, hiperplasia de hipófise e de alguns adenomas. Essas neoplasias apareceram concomitantemente com tumores de mama<sup>5</sup>. Parece existir conexão entre o aparecimento dos tumores de mama e a frequência dos tumores de hipófise. A mais simples explicação seria que os adenomas de hipófise produziram prolactina e, assim, provocariam o crescimento de tumores de mama. Contrário a essa idéia é o fato de que, com o crescimento de tumor de mama, não se observa hiperplasia das células acidófilas que são tidas como produtoras de prolactina, mas sim uma clara proliferação de células cromóforas<sup>3,5</sup>.

---

Trabalho realizado no Instituto Max Planck para pesquisas cerebrais (Diretor: Prof. Dr. Klaus Joachim Zülch) Colonia, Alemanha: \*Pesquisadores do Instituto ex-bolsistas do Deutscher Akademischer Austauschdienst: \*\*Auxiliar de Ensino no Departamento de Patologia da Fundação Faculdade Católica de Medicina de Porto Alegre, RS.

Os quadros histológicos dos tumores de hipófise espontâneos e daqueles induzidos por estrógenos são iguais. As neoplasias espontâneas<sup>22</sup> e as induzidas por estrógenos foram classificadas como adenoma cromóforo<sup>26</sup>. A prolactina foi demonstrada em tumores transplantados<sup>26</sup> e nos tumores de hipófise em ratos, quer induzidos ou espontâneos<sup>16</sup>. Weil e Zondek<sup>28</sup> já puderam demonstrar, pela administração de estrógenos, uma degranulação das células cromófilas concomitantemente com aumento de células cromóforas; assim, é natural a suspeita de que os casos de adenomas de hipófise, espontâneos ou induzidos por estrógenos, sejam do tipo "degranulado", verdadeiramente acidófilo mamó. (somato?)trópico<sup>2,10</sup>. Com efeito, foi demonstrada em culturas de células de adenomas de hipófise em ratos, a produção de hormônio somatotrópico<sup>24,25</sup>.

Observa-se raramente crescimento infiltrativo nos tumores espontâneos de ratos ou nos induzidos experimentalmente com hormônios sexuais ou com substâncias de valor análogo. Apesar disso, muitos desses tumores puderam ser transplantados em ratos por muitas gerações, de tal forma que tem que ser admitida, ao menos, a possibilidade que esses tumores devam ter adquirido um crescimento autônomo<sup>23</sup>.

Desde 1966 tem sido possível produzir tumores intracranianos mediante a administração de compostos de N-nitrosouréia<sup>17</sup>. Ao lado de gliomas,ependimomas e neurinomas malignos, foram observados esporadicamente tumores hipofisários, que foram colocados na classificação, mas a seguir interpretados como de origem espontânea. Um confronto estatístico entre os tumores hipofisários observados em experimentos e os tumores espontâneos é difícil porque os adenomas de hipófise surgem esporadicamente nos diferentes experimentos, enquanto que os tumores hipofisários espontâneos em ratos dependem fortemente da raça, sexo e idade do animal<sup>12</sup>.

Uma comparação entre os dados biológicos e a morfologia dos tumores hipofisários originados em experimentos, parece mais conveniente para dar uma resposta adequada sobre a pergunta se o carcinógeno químico aplicado nessas experiências induziu ou acelerou o crescimento da neoplasia.

#### MATERIAL E METODOS

Os tumores de hipófise em ratos que serão aqui relatados originaram-se a partir de experimentos com substâncias alquilantes, realizados por Druckrey e col. 7. Todas as neoplasias intracranianas e aquelas suspeitas de origem neurogênica foram diagnosticadas e classificadas rotineiramente. Tumores de hipófise induzidos por estrógenos surgiram em experimentos nos quais foi testada a ação do dietilstilbestrol sozinho ou em combinação com a metilnitrosouréia em aplicação crônica e a etilnitrosouréia em aplicação transplantária. O material fixado em formalina foi incluído em "Paraplast" e corado para tratamento histológico rotineiro pela hematoxilina-eosina, cresil violeta, Azan e, eventualmente, por impregnação com a prata, Tibor-Pap ou Wilder-PAS e aldeidofucsina, bem como hematoxilina férrica de Heidenhain.

Os tumores transplantados, oriundos também do laboratório de Druckrey, encontram-se agora na 10ª passagem. A injeção subcutânea, sob a pele do pescoço, de um fragmento de tumor ou de uma suspensão de células, prestou-se para o transplante desses tumores. O tumor cresceu também intraperitonealmente. Um segundo tumor de hipófise, oriundo de nosso próprio experimento encontra-se na primeira geração.

Material para microscopia eletrônica foi fixado com glutaraldeído a 2,5% e ácido ósmico. O tecido incluído em Epon, foi cortado em um ultrótomo Porter Blum e o corte foi recolhido em uma armação de cobre e observado e fotografado em microscópio eletrônico Zeiss 9.

A explantação "in vitro" foi realizada em tubos de Leighton e placas de Petri de plástico, ora incubados em sistemas fechados ou em ar contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Os tumores transplantados foram seccionados em pequenos fragmentos e incubados, após serem lavados em meios contendo penicilina, estreptomina e, às vezes, tripsina, em meio de Eagles MEM com soro de vitela, penicilina 100 IE/ml e estreptomina 100 µg/ml. Foram retiradas células das culturas, em intervalos regulares, e, após fixação em álcool, foram coradas e examinadas ao microscópio.

#### POSIÇÃO NA CLASSIFICAÇÃO E DADOS ESTATÍSTICOS

Os tumores de hipófise em ratos BD foram classificados com os tumores neurogênicos induzidos em animais. Sua frequência relativa é dada na tabela 1. Os experimentos nos quais apareceram tumores de hipófise estão demonstrados na tabela 2. Acentuada é a frequência desses tumores quando os animais foram tratados por substâncias do grupo do triaceno, ao contrário do que ocorreu com os casos tratados com outras substâncias, onde os tumores de hipófise só apareceram em pequeno número. Isto leva a pensar em clara ação seletiva, ao contrário das observações anteriores 19. Entretanto essa ação seletiva só seria confirmada se houvesse um significativo encurtamento do tempo de indução dos tumores provocados pelas substâncias do grupo do triaceno. Isto não ocorreu, pois a média de idade dos animais desse grupo foi tão alta (623 dias) quanto a média de idade dos ratos dentro da totalidade do grupo (626 dias).

|  |           |       |
|--|-----------|-------|
| Oligodendroglioma                      | isomorfo  | 8,3%  |
|  | polimorfo | 0,1%  |
| Astrocitoma                            | isomorfo  | 5,0%  |
|  | polimorfo | 0,2%  |
| Glioma misto                           | isomorfo  | 17,5% |
|  | polimorfo | 3,9%  |
| Ependimoma                             | isomorfo  | 11,8% |
|  | polimorfo | 1,3%  |
| Neurinoma maligno                      |           | 41,0% |
| Estesioneuroepitelioma/meduloeptelioma |           | 1,3%  |
| Adenoma de hipófise                    |           | 2,9%  |
| Tumores meníngeos                      |           | 1,2%  |
| Tumores não classificados e outros     |           | 4,4%  |
| Total                                  |           | 99,9% |

*Tabela 1 — Classificação e percentagem dos 1731 casos de tumores do sistema nervoso central e periférico e intracranianos em ratos. Todos tumores se originaram no decurso de pesquisas com substância carcinogênicas de absorção.*

Uma segunda observação em outras estirpes de ratos demonstrou também, em determinada coletividade, a predominância do sexo feminino. Nosso trabalho baseia-se na análise morfológica de 81 neoplasias. Em dois casos não havia dados quanto ao sexo dos ratos, os 74 restantes eram do sexo feminino e apenas 5 do sexo masculino. A

distribuição das idades mostrou um pico no 623º dia, com um desvio padrão de 200 dias. O animal mais jovem com tumor de hipófise tinha 233 dias de idade e o mais velho 1010 dias. Um claro aumento na curva de idade tiveram os animais com tumor de hipófise que foram produzidos nos experimentos com aplicação transplacentária de etilnitrosouréia ( $801 \pm 130$  dias). Isto é explicado, em parte, porque nos experimentos dos grupos sob a ação transplacentária de drogas, em dosagens diferentes, os animais foram observados durante toda a vida, havendo alguns animais em que se utilizou pequenas doses de substâncias carcinógenas, que apresentaram longa sobrevivência e, portanto, tiveram tempo para desenvolver, adenoma de hipófise na velhice. A combinação com outros tumores, sem considerar os tumores de mama, foi encontrada em 5 casos (tabela 3).

| Substâncias                  | Número de tumores |
|------------------------------|-------------------|
| Triaceno                     | 25                |
| Derivados da uréia(uretano-) | 18                |
| Derivados da hidrazida       | 10                |
| Fósforo 32                   | 6                 |
| Azoalkane                    | 5                 |
| Propansulton                 | 3                 |
| Etilnitrosobiureto           | 2                 |
| Nitrosamina                  | 5                 |
| Outros                       | 7                 |

*Tabela 2 — Distribuição dos 81 casos de tumores de hipófise conforme os tipos de substâncias empregadas nos diferentes experimentos.*

| Experimento                                  | Tempo de indução (dias) | Tumores observados  |
|--|-------------------------|---|
| 1. ENU 1x50<br>15 dias                       | 476                     | Adenoma cromóforo da hipófise + oligodendroglioma na medula + tumor pélvico (neurinoma) |
| 2. Fenilmonometiltriaceno                    | 652                     | Adenoma cromóforo da hipófise + neurinoma periférico                                    |
| 3. ENU 1x80<br>ratos adultos                 | 423                     | Adenoma cromóforo da hipófise + oligodendroglioma                                       |
| 4. ENU 1x20<br>30º dia p.p.                  | 671                     | Tumor da hipófise não classificado + limfoma do vago no mediastino                      |
| 5. Piridilmetiltriaceno 1x50<br>30º dia p.p. | 392                     | Adenoma cromóforo da hipófise + este-neuroepitelioma do bulbo olfatório                 |

*Tabela 3 — Casos em que houve associação entre adenomas da hipófise e outros tumores.*

## MORFOLOGIA DOS ADENOMAS DE HIPOFISE E SEU VALOR BIOLÓGICO

A morfologia dos tumores de hipófise foi descrita em outro trabalho<sup>19</sup> e, assim, só trataremos desse assunto de forma rápida. Os tumores tinham macroscopicamente até o tamanho de uma ervilha e seu crescimento foi, em regra, comprimindo e deslocando o cérebro a partir da base (fig. 1). Infiltração do cérebro foi encontrada em apenas dois casos, sendo em forma de cone (fig. 2).

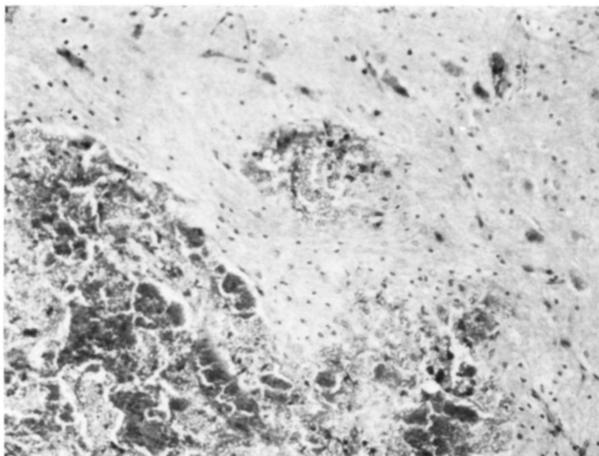


*Fig. 1 — Corte horizontal de um cérebro de rato com adenoma de hipófise. O corte situa-se próximo à base do crânio. O adenoma desloca a substância cerebral.*

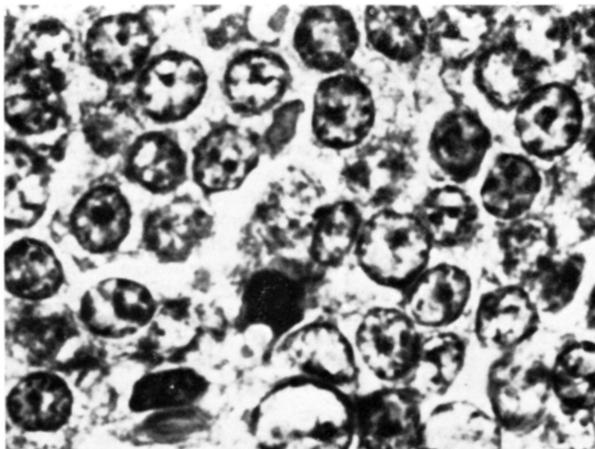
Microscopicamente os tumores eram extraordinariamente ricos em vasos, aparecendo em quase todos os casos sangramento recente ou antigo. No quadro citológico predomina claramente um tipo celular bem definido, contendo grande núcleo redondo ou oval, pobre em cromatina, com um e raramente dois nucléolos. O citoplasma era pouco delimitado e se corava debilmente pela eosina. As células permanecem com ligações epiteliais, sem formar estrutura especial identificável (fig. 3). Um segundo tipo de aparecimento regular é constituído por células pequenas, poligonais, com núcleo escuro, pouco estruturado. Estas células aparecem em tumor de hipófise formando estrias e travessuras (fig. 4a), podendo ocupar todo campo e constituir a citologia de todo tumor. De acordo com o tipo de célula preponderante, os tumores foram divididos em dois tipos, sendo o primeiro tipo predominante. Com o estudo do material acumulado pode-se supor que as células do segundo tipo sejam do estroma. Na verdade, em sua evolução, as células descritas só raramente demonstram a sua produção de reticulina. Quando essas fibras são observadas, há nítida correlação com essas células (fig. 4b).

Freqüentemente o adenoma pode ocupar apenas parte da tumoração. Em um caso pôde ser demonstrada a característica forma celular do adenoma em um nódulo tumoral no interior de uma hipófise pouco alterada. Em outro caso observou-se tecido hipofisário inalterado nas vizinhanças do tumor. Demonstrou-se, por meio de diversas colorações, a presença de grânulos eosinófilos e basófilos. Também a reação de PAS, nessa zona vizinha, foi positiva em células isoladas ou em grupamentos. As células eosinófilas podem ser identificadas pela sua coloração cinza com hematoxilina férrica de Heidenhain.

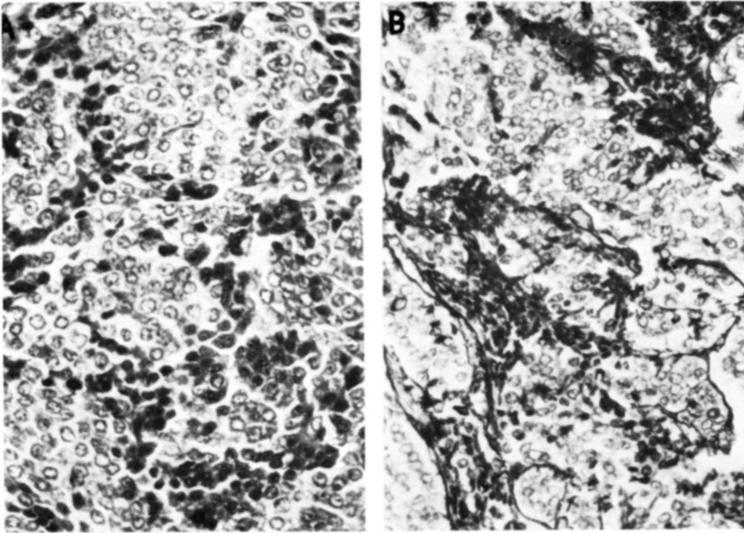
As verdadeiras células tumorais são evidenciadas pelo citado método como negativas; assim, o tumor, ao microscópio óptico, é descrito como adenoma cromóforo. Simplesmente com hematoxilina férrica de Heidenhain podem ser evidenciadas em muitas células grandes partículas (fig. 5 a).



*Fig. 2 — Crescimento infiltrativo de um adenoma de hipófise.*



*Fig. 3 — Aspecto característico das células de adenoma de hipófise. Os núcleos são grandes e leptocromáticos (cresti-violeta — 1024 x).*



*Fig. 4 — Em A, observam-se dois tipos de células nos adenomas de hipófise. Ao lado das células próprias da hipófise, encontram-se células pequenas e hiper Cromáticas que são consideradas como originadas no estroma (hematoxilina-eosina — 320 x); em B, observam-se fibras de reticulina próximas dessas células escuras (Wilder — 320 x).*

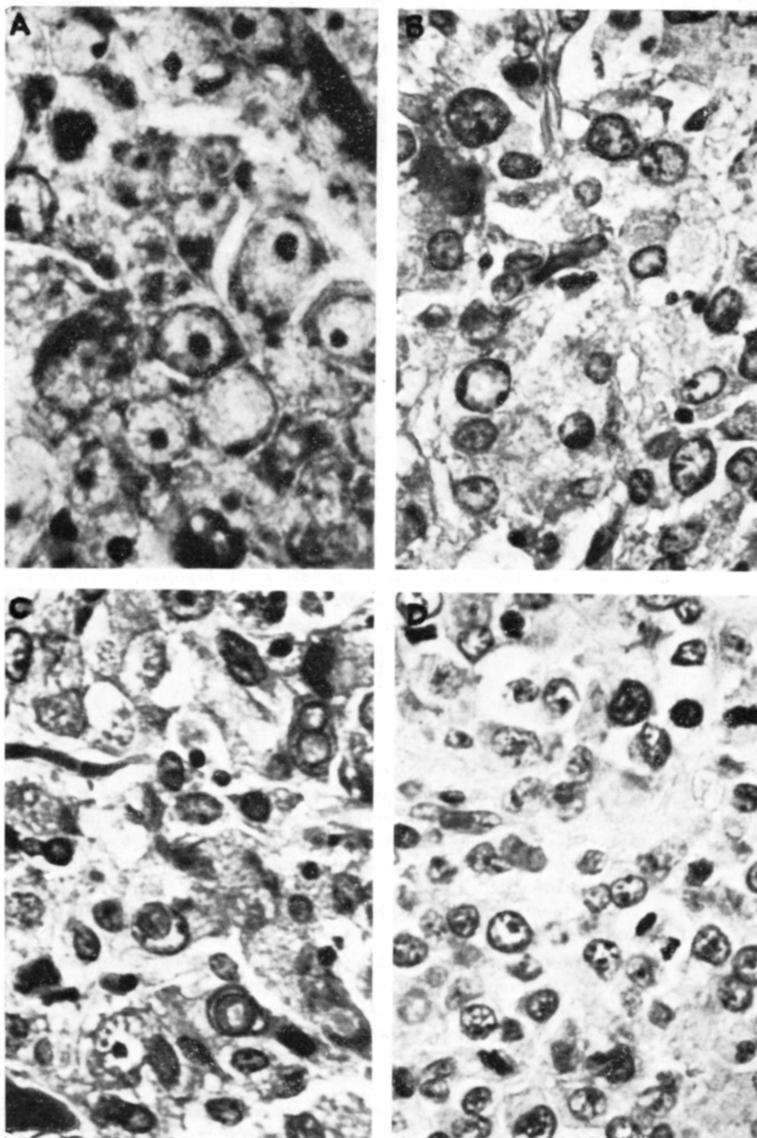
Devido a seu crescimento não invasor, esses tumores podem ser considerados como predominantemente benignos. Também fala a favor da benignidade, o seu isomorfismo celular e tecidual. Raramente observou-se polimorfismo celular (fig. 5 b). Algumas vezes, foram vistos núcleos bizarros com indentações (fig. 5 c). Aqui pode-se fazer um paralelo entre a descrição dos adenomas de hipófise humanos endocrinamente ativos. Acessoriamente, deve-se referir que quatro tumores apresentaram mitoses (fig. 5 d); dois mostraram, como já mencionamos, crescimento infiltrativo no tecido cerebral circunjacente.

Em poucos tumores observou-se, além das células eosinófilas encontradas na zona circunjacente ao tumor, a presença de células poligonais que apareceram em ilhotas ou predominando no quadro histológico. Nessas células, no interior do tumor, não se pôde demonstrar nenhum grânulo eosinófilo. Apesar disso, esses tumores foram denominados de adenomas cromófobos, com participação eosinófila, devido às características daquelas células

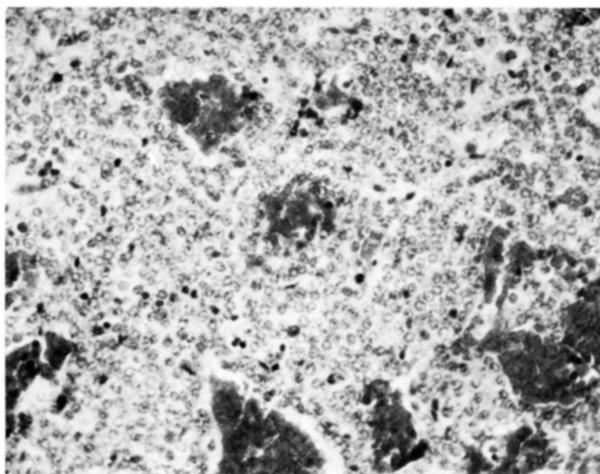
Característica dos citados adenomas é a riqueza em vasos (fig. 6) que se encontram repletos de sangue, parcialmente constituídos por sinusóides que originam áreas de sangramento, dos quais se evidenciam sequelas antigas e recentes.

Quando há sangramento, observa-se descontinuidade histológica por alteração celular necrótica. Esses casos, apesar de se realizar um diagnóstico de presença de evidente tumor, permaneceram como não classificados.

O diagnóstico de adenoma cromóforo foi feito em 67 animais; de adenoma cromóforo com participação eosinófila, em 7 casos; de adenomas malignos, em 4 ratos e, finalmente, não se pôde classificar 3 casos de tumores de hipófise em ratos.



*Fig. 5 — Em A, notam-se grânulos no citoplasma de algumas células (hematoxilina férrica de Heidenhain — 1250 x); em B e C, pleomorfismo celular encontrado em raros casos de adenomas de hipófise, sendo que algumas células apresentam indentações nucleares ou inclusões intranucleares (hematoxilina-eosina — 612 x); em D, observam-se raras mitoses (hematoxilina eosina — 612 x).*



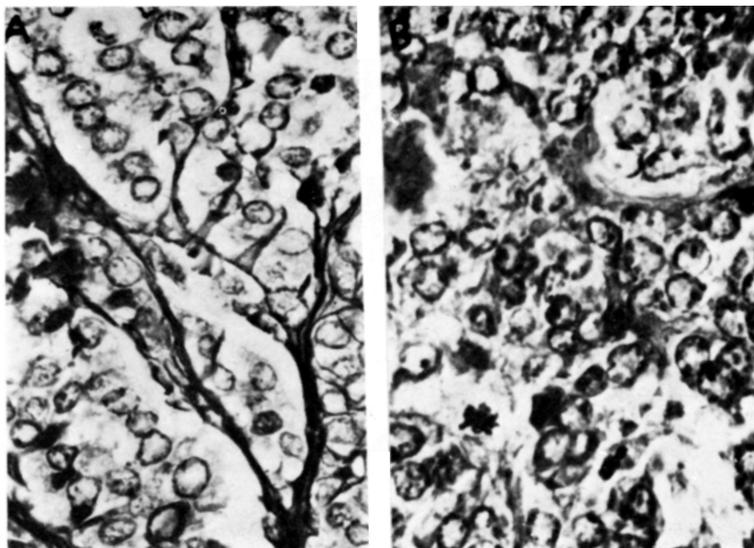
*Fig 6 — Geralmente os adenomas de hipófise apresentam rica vascularização (hematoxilina-eosina — 320 x).*

#### TUMORES TRANSPLANTADOS, TEMPO DE INDUÇÃO, ULTRAESTRUTURA E MORFOLOGIA IN VITRO

Um tumor típico com morfologia cromófoba foi transplantado no laboratório de Druckrey e cultivado subcutaneamente até a 10ª passagem. O tempo de indução do tumor foi de 200 a 250 dias, nas seis primeiras passagens, quando o tumor era do tamanho de uma noz. Da 7ª a 10ª passagem, o tempo de indução foi em média de 150 dias. Em um segundo tumor, observado em experimento com combinação de estrógenos e carcinógeno alquilante, o tempo de indução, na primeira passagem, foi de 12 meses.

Morfologicamente só se diferencia acidentalmente os tumores transplantados, por via subcutânea ou intraperitoneal, dos adenomas geuninos de hipófise. Em todas as passagens apareceram as células típicas, balonadas, uniformemente distribuídas. Também, à semelhança dos tumores genuínos, observou-se extraordinária riqueza vascular. A participação mesodérmica manifestou-se mais claramente nos tumores transplantados subcutaneamente do que nos tumores autóctones. Espessos septos de tecido conjuntivo dividem o tumor verdadeiro em ilhotas (fig. 7 a). Por vezes, aparecem mitoses frequentes (fig. 7 b). As ilhas de células tumorais foram em todos casos isomorfas.

Ultraestruturalmente apresentam-se as células neoplásicas como altamente diferenciadas (fig 8). Os núcleos são, na maioria, redondos e raramente sinuosos. A cromatina nuclear distribui-se sobre o nucléolo e nas proximidades da membrana nuclear. O citoplasma é rico em organelas diferenciadas, sendo as grandes mitocôndrias as mais numerosas. As mitocôndrias alongadas e até ovais, em parte inchadas, apresentam-se muito numerosas no citoplasma. As cristas mitocondriais estão formadas apenas em pequeno número. Observa-se próximo às mitocôndrias, acúmulos de grânulos de glicogênio. Células que mantêm o seu caracter, mesmo contendo no seu citoplasma numerosas mitocôndrias inchadas, correspondem a oncócitos, cujo aparecimento em tumores de hipófise humanos já foi descrito<sup>15,18</sup>. Essas células assemelham-se, por sua propriedade tintorial, a eosinófilos e, por isso, deve-se levá-las em consideração



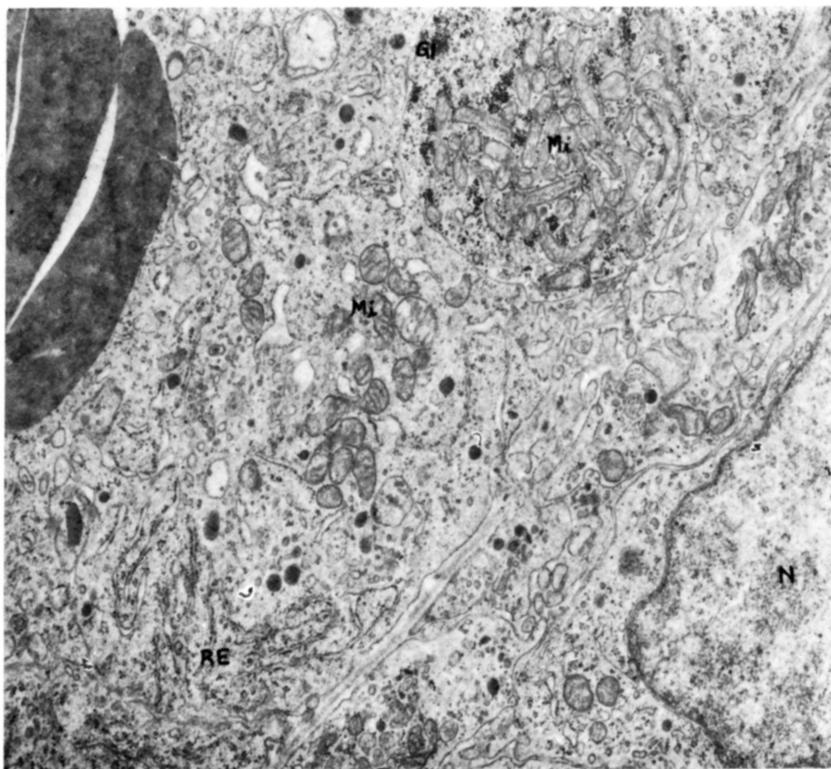
*Fig. 7 — Os adenomas de hipófise transplantados mostram proeminente participação de fibras reticulínicas (A) e numerosas mitoses (B) (hematoxilina-eosina — 612 x).*

para o diagnóstico diferencial dos adenomas de hipófise. Nas células blastomatosas permanece o retículo endoplasmático granuloso ou liso com localização típica ao redor do núcleo celular; no citoplasma é marcante a presença de vesículas dilatadas do aparelho de Golgi. Não só o aparelho de Golgi, como também o retículo endoplasmático liso, apresentam-se em sugestivas ou marcadas camadas lamelares no citoplasma de uma célula isolada.

Os grânulos secretórios que, no citoplasma de muitas células, permanecem em número variável, em nenhum caso são muito numerosos, possuindo um halo entre o núcleo espesso e a nítida membrana; seu tamanho varia de 70  $m\mu$  e 200  $m\mu$ . Esses grânulos podem se encontrar marcadamente sobre a membrana citoplasmática que pode estar abaulada por um único grânulo secretor.

Observa-se nítida membrana dupla no limite do citoplasma. No espaço intercelular há colágeno e, também aqui, se evidenciam grânulos de hormônio. Sem se preocupar com a relação entre a produção de hormônio específico e as citadas células, pode-se concluir, com base no quadro ultraestrutural, que apresentam intensa atividade metabólica e que produzem e secretam hormônios.

Pouco sucesso teve a explantação dos tumores transplantados. As células hipofisárias epiteliais crescem só inconstantemente e foram rapidamente substituídas por fibroblastos pré-existentis. Ilhotas de células epiteliais permanecem sobre os fibroblastos como uma "capa alimentadora" (feed layer) conservada por muito tempo. Uma depressão no crescimento fibroblástico não chega a ser duradoura, em base à pequena tendência de proliferação das verdadeiras células adenomatosas. Um modelo "in vitro" seria de especial valor no crescimento para demonstrar, independente dos fatores perturbadores, a atividade endócrina das células.

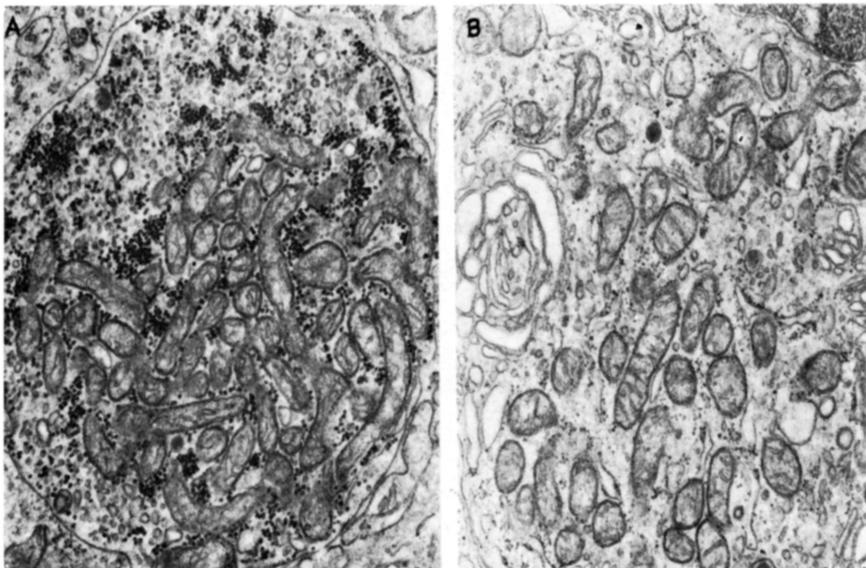


*Fig. 8 — Aspecto ultraestrutural do núcleo e dos elementos citoplasmáticos de um adenoma de hipófise transplantado. O citoplasma apresenta riqueza em organelas: mitocôndrias (Mi), retículo endoplasmático (RE) e vesículas do aparelho de Golgi. Em muitas células, observa-se grande número de mitocôndrias, podendo também apresentar glicogênio (G1). Observam-se também grânulos ou pré-grânulos de hormônio que apresentam um núcleo denso, um halo claro e uma membrana (ME — 18.000 x).*

#### DISCUSSÃO

Devem ser discutidas as seguintes questões: a hormônio-dependência dos tumores descritos e o seu significado para o crescimento do tumor; o significado do modelo de tumor hormônio-dependente para a patologia das neoplasias humanas; o significado da ação hormonal para a biologia do crescimento canceroso.

A análise estatística e morfológica dos tumores de hipófise observados em experimentos mostra que eles correspondem, em todos os pontos, às neoplasias espontâneas em ratos. Não só os adenomas hipofisários espontâneos, como também aqueles induzidos aparecem mais freqüentemente em animais fêmeas<sup>11</sup>.



*Fig. 9 — Em A, grande aumento de uma célula, com numerosas mitocôndrias e glicogênio; em B, nota-se a presença de grânulos de hormônio e vesículas do tipo lamelar, em zona da célula rica em mitocôndrias (ME — 31.000 x).*

Os trabalhos de Kwa Hong Giok (1961) demonstram o que se observou na maioria das pesquisas, ou seja, a mais alta percentagem de tumores de hipófise espontâneos em ratos fêmeas do que em ratos machos, apesar de outros trabalhos terem encontrado resultados contrários. Em quase todas as pesquisas, os animais com tumor apresentaram idade elevadas. No nosso experimento, a idade média dos animais com tumor de hipófise foi de 623 dias. Pesquisas de indução tumoral com carcinógenos de reabsorção demonstram que geralmente o tempo de indução é mais curto como se, com a dose pequena, a substância seja ativa apenas em parte do tempo de vida do animal. Da nossa pesquisa depende-se que os tumores de hipófise apareceram com doses especialmente baixas. Assim ocorreu nas pesquisas com carcinógenos transplacentários<sup>7</sup>, especialmente nos animais grávidos ou na descendência que foram injetados antes do 15º dia pós-coito; na administração pós-natal foram encontrados especialmente adenomas de hipófise nos animais que receberam etilnitrosouréia em baixas doses<sup>6</sup>.

Na morfologia não se observou qualquer diferença entre os adenomas de hipófise espontâneos e aqueles induzidos por estrógenos<sup>19</sup>. Também o exame ultraestrutural fala em favor de nosso achado, bastante igual àqueles que foram descritos para os tumores de hipófise induzidos por estrógenos<sup>14</sup>. Assim foram encontradas mitocôndrias bem formadas, aparelho de Golgi e ergastoplasma. O ergastoplasma era, às vezes, formado de camadas lamelares. Até grânulos de hormônio foram encontrados. Achados quase idênticos foram também relatados por Tiboldi<sup>26</sup> para adenomas induzidos por estrógenos.

A biologia dos tumores de hipófise será analisada de forma sumária: a classificação da neoplasia como hormônio-dependente é a melhor, pois não existe qualquer esclarecimento sobre o mecanismo em seus pormenores, mas isso não significa que isto represente apenas uma hiperplasia hormônio-dependente<sup>4</sup>. Contra isto fala o achado de que os tumores são em regra transplantáveis e que determinam a morte do animal em base a seu crescimento autônomo; entretanto aparecem sempre tumores de hipófise que, com base em critério morfológico, são classificados como “adenomas malignos”. De outro lado há a predominância de tumores transplantáveis e a falta de crescimento “in vitro”, mostrando a pequena velocidade de proliferação desses tumores. Talvez uma análise quantitativa do crescimento nos tumores transplantados possa esclarecer essa questão.

Em que extensão os achados aqui relatados têm significação para a patologia humana? A atividade endócrina dos tumores de hipófises e sua relação com os diferentes quadros clínicos é objeto de muitas pesquisas<sup>9</sup>. Uma relação entre o quadro morfológico<sup>29</sup> e o quadro endocrinológico de síndrome de Cushing e acromegalia não chega a ser totalmente satisfatória, assim como a noção de adenoma misto de W. Müller<sup>20</sup> no sentido de que a noção de adenoma endocrinamente ativo deve ser expandida e fundamentar-se em bases microscópicas<sup>21</sup>. A divisão em endocrinamente ativos — adenomas do tipo misto — e endocrinamente inativos — adenoma cromóforo verdadeiro — foi confirmada mediante pesquisa com microscopia eletrônica<sup>27</sup>. O adenoma do tipo misto foi, entretanto, incluído como proposta na “classificação preliminar dos tumores do sistema nervoso central e estruturas anexas”, da Organização Mundial da Saúde, mas permanece ainda sem definição.

Os adenomas de hipófise aqui descritos indicam no quadro microscópico e ultraestrutural uma boa concordância com os adenomas do tipo misto. A experimentação e a pesquisa tumoral comparativa mostra-se aqui, como também em outros casos<sup>30</sup>, de grande valia para a classificação.

Resta a pergunta sobre o modo pelo qual os tumores hormônio-dependentes podem contribuir para a compreensão do problema geral do crescimento tumoral. A ação hormonal desempenha certamente um papel no crescimento de alguns tumores, talvez também como fator básico no crescimento tumoral. Por isso, modelos nos quais apareçam regularmente tumores hormônio-dependentes podem contribuir para esclarecer o papel do hormônio no crescimento tumoral.

#### RESUMO

Foram analisados histologicamente 81 casos de adenomas de hipófise em ratos. Esses tumores foram observados em experimentos com carcinógenos de absorção. Essas substâncias produziram também outros tumores intracranianos. Um dos adenomas de hipófise assim obtido foi transplantado subcutaneamente, obtendo-se muitas passagens que foram seguidas histologicamente e ao microscópio eletrônico. Esses tumores foram também explantados “in vitro”.

## SUMMARY

*The morphology of rat pituitary adenomas*

Pituitary tumors in rats can be induced by estrogens. They also occur spontaneously in various frequencies depending on strain, sex and age of the animals. They were considered to be hormone-dependent (mammatropic). However, morphologically they were mostly described as chromophobe pituitary adenomas. This does not contradict hormonal activity if one assumes that a degranulation during this activity in tumor cells takes place.

*Methods* — 81 pituitary adenomas were analysed histologically. They had been observed during experiments with resorptive carcinogens which either produced tumors in the intracranial cavity or were supposed to do so. One tumor was transplanted subcutaneously. Several passages of this tumor were followed up histologically and by electron-microscopy. In addition, these tumors were explanted *in vitro*.

*Results* — Pituitary adenomas were found in rats which were  $623 \pm 200$  days old; 74 were females, 5 were male. The morphology of rat pituitary tumors was characterized by two cell types: the one consisted of small dark cells that were considered to be stromal elements; the other cells, the true adenoma cells, were epithelial elements in which no specific granulations could be found with the usual methods. Only few tumors had mitoses, infiltrative growth and cellular pleomorphism. Tumors were rich in vasculature. Transplanted tumors grew regularly in isogenic rats. The induction time was over 200 days in the first six and about 150 days in the 7<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> passages. Histologically, these tumors were not different from the primary adenomas. In parts, the stromal participation was more pronounced.

By electron microscopy highly differentiated cells could be identified. They had many mitochondria, endoplasmic reticulum, vesicles and dispersed hormone granula. Some cells had a very high number of mitochondria, thus resembling oncocytes.

The explantation of transplant pituitary adenomas was not successful. Fibroblasts always overgrew the adenoma cells, which had apparently a very low proliferation rate.

These tumors probably are hormone-dependent and hormonally active. They can be considered to be spontaneous tumors in rats. However, they exhibited autonomous growth potentialities when transplanted into other hosts. These are benign tumors which have possibility of malignant growth.

## REFERENCIAS

1. BEATSON, G. T. — On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mama. Suggestion for a new method of treatment, with illustrative cases. *Lancet* 2:104, 1896
2. BIELSCHOWSKY, F. — Functional acidophilic tumors of the pituitary of the rat. *Brit. J. Cancer (London)* 8:154, 1954.

3. BRYAN, W. R.; KLINCK, G. H. Jr. & WOLFE, J. M. — The unusual occurrence of a high incidence of spontaneous mammary tumors in Albany strain of rats. *Amer. J. Cancer* 33:370, 1938.
4. BUNGELER, W. — Die Definition des Geschwulstbegriffs und die Abgrenzung der hyperplasien gegenüber den Geschwülsten. *Verh. dtsh. Ges. Path.* 36:10, 1951.
5. CRAMER, W. & HORNING, E. S. — Experimental production by oestrin of pituitary tumors with hypopituitarism and of mammary cancer. *Lancet* 1:247, 1936.
6. DRUCKREY, H.; SCHAGEN, B. & IVANKOVIC, S. — Erzeugung neurogener Malignome durch einmalige Gabe von Äthylnitrosoharnstoff(ÄNH) an neugeborene und jung BD-IX-Ratten. *Z. Krebsforsch.* 74:141, 1970.
7. DRUCKREY, H.; PREUSSMANN, R.; IVANKOVIC, S. & SCHMAHL, D. — Organonotrope carcinogene Wirkung bei 65 verschiedenen N-Nitrosoverbindungen an BD-Ratten. *Z. Krebsforsch.* 69:103, 1967.
8. McEUEEN, H.; SELYE, S. & COLLIP, J. B. — Some effects of prolonged administration of oestrin in rats. *Lancet* 1:775, 1936.
9. FAHLBUSCH, R. — Endocrinology of pituitary tumors. *Proc. German Society of Neurosurg., Hamburg, 1972. In Modern Aspects of Neurosurgery, Excerpta Medica, Amsterdam, 1973, pages. 90-95.*
10. FURTH, J.; CLIFTON, K. H.; GADSDEN, E. L. & BUFFETT, R. F. — Dependent and autonomous mammotropic pituitary tumors in rats: their somatotropic features. *Cancer Res.* 16:608, 1956.
11. GLOW, P. H. — Incidence of chromophobe adenoma after chronic diisopropyl-fluorophosphate poisoning. *Nature* 221:1265, 1969.
12. GRIEPENTROG, F. — Spontane Hypophysentumoren als häufiger Befund bei weissen Laboratoriumratten. *Beitr. path. Anat.* 130:40, 1964.
13. McGUIRE, W. L.; CHAMNESS, G. C.; COSTLOW, M. E. & SHEPHERD, R. E. — Hormone dependence in breast cancer. *Metabolism* 23:75, 1974.
14. HAGUENAU, F. & LACOUR, F. — Cytologie electronique de tumeurs hypophysaires experimentales, leur appareil de Golgi. *In Fine Structures of Cells. VIII International Congress of Cell Biol., Leiden (1954), Union Inter. de Science Biologique, Series B, Nr. 21(1955), pages. 316-321 (Groningen).*
15. IGLESIAS-ROZAS, I. R. & CERVOS NAVARRO, J. — Ultrastructural study of human pituitary adenoma. Paper presented at the VII<sup>th</sup> International Congress of Neuropathology, 1-7 September, 1974.
16. ITO, A.; MARTIN, J. M.; GRINDELAND, R. E.; TAKIZAWA, S. & FURTH, J. — Mammotropic and somatotropic hormones in sera of normal rats and in rats bearing primary and grafted pituitary tumors. *Int. J. Cancer* 7:416, 1971.
17. IVANKOVIC, S. — Selektive Erzeugung von Geschwülsten im Gehirn und Nervensystem. *Krebsforsch. u. Krebskämpf. Band IV. Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 1967.*
18. LANDOLT, A. M. — The oncocytoma, a new histological type of pituitary adenoma. *Excerpta med. (Amsterdam)* 4:116, 1973.
19. MENNEL, H. D. — Zur Morphologie der Hypophysentumoren bei der Ratte. *Arzneimittelforsch.* 19:1955, 1969.
20. MÜLLER, W. — Zur Frage der hypophysäre Tumoren von Mischtyp. *Acta Neurovegetativa (Wien)* 8:451, 1954.

21. MÜLLER, W. — Pathologie der Hypophysentumoren. In Östrogene Hypophysentumoren. XV Symposium der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie, pages. 206-222. Herausgeber: J. Kracht. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1969.
22. OBERLING, Ch.; GUERIN, M. & GUERIN, P. — La production expérimentale de tumeurs hypophysaires chez le rat. Compt. rend. Soc. de Biol. 123:1152, 1936.
23. SAXTON, J. A. — The relation of age to the occurrence of adenoma-like lesions in the rat hypophysis and to their growth after transplantation. Cancer Res. 1:277, 1941.
24. SONNENSCHNEIN, C.; RICHARDSON, I. & TASHJIAN, A. H. Jr. — Chromosomal analysis, organ specific function and appearance of six clonal strains of rat pituitary tumor cells. Exptl. Cell Res. 61:121, 1970.
25. TASHJIAN, A. Jr.; BANCROFT, F. C. & LEVINE, L. — Production of both prolactin and growth hormone by clonal strains of rat pituitary tumor cells. J. Cell. Biol. 47:61, 1970.
26. TIBOLDI, T. — Zum Problem des experimentellen Hypophysentumoren nach Östrogenbehandlung. Med. Monatsschr. 24:109, 1970.
27. WECHSLER, W. & HOSSMANN, K. A. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen chromophober Hypophysen-Adenome des Menschen. Z. Neurochir. 26:105, 1965.
28. WEIL, A. & ZONDEK, B. — The histopathology of the pituitary of the white rat injected with follicular hormone. Endocrinology 25:114, 1939.
29. ZÜLCH, K. J. — Biologie und Pathologie der Hirntumoren. In Handbuch der Neurochirurgie, Band 13, Springer Verlag, Heidelberg, 1956.
30. ZÜLCH, K. J. & MENNEL, H. D. — Neuroblastom, Medulloblastom, Neuroepitheliom, Medulloepitheliom. In Vorbereitung.

*Max Planck Institut für Hirnforschung — Abteilung Allgemeine Neurologie — Ostmerheimerstr. 200 — 5 Köln-Merheim — Deutschland.*