



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
CURSO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS  
FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE SALUD  
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA  
PATOLÓGICA

**Estudio de la sensibilidad y especificidad neta de los marcadores  
inmunohistoquímicos Sinaptofisina, Cromogranina y CD56 en las  
neoplasias neuroendocrinas gastrointestinales del Hospital Juárez de  
México en el período 2013-2017**

PRESENTA:

Dr. César Alejandro Hernández Cuevas

Director y Asesor:

Dr. José Rafael Peñavera Hernández

Ciudad de México, México, agosto de 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

AUTORIZACIÓN DE TESIS

47

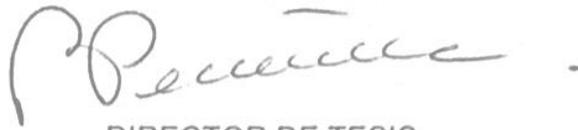


DR. JAIME MELLADO ABREGO

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA, HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO  
UNIDAD DE ENSEÑANZA  
POSGRADO

DR. VICTOR MANUEL FLORES MÉNDEZ  
JEFE DE POSGRADO

NÚMERO DE REGISTRO DE TESIS: HJM 0508/18-R



DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ RAFAEL PEÑAVERA HERNÁNDEZ



ASESOR DE TESIS:

DR. JOSÉ RAFAEL PEÑAVERA HERNÁNDEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE POSGRADO DE LA ESPECIALIDAD  
DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

NÚMERO DE REGISTRO DE TESIS: HJM 0508/18-R

## **Dedicatoria**

A mi esposa por creer en mi y siempre alentarme a seguir adelante.

A mi hija Fátima, que con cada sonrisa y latido de su corazón me llena de alegría.

A mi hija Cristina, que con su mirada profunda y risa iluminan mis días.

A mi familia, por darme educación, valores y fortaleza.

A mis profesores que me mostraron el largo camino y el estrecho sendero del correcto.

A Dios, por cada persona que colocó, quitó, acompañó y sigue en mi camino, así como por todas las gracias que me dio.

## **Agradecimientos**

En primer lugar, agradezco a mi esposa, a mi compañera de vida, a mi mejor amiga y a la mamá de mis hijas por su inmenso apoyo, aliento y comprensión.

A mis hijas Fátima y Cristina por existir, por ser la alegría de mi vida y la motivación más grande para superarme.

Agradezco a mi familia, que aunque escasa en número, me dieron fuerza y siempre pusieron mis pies en la tierra para enfrentar la vida.

A mis profesores por sus enseñanzas, su paciencia, sus ejemplos y lo más valioso, su tiempo.

A mi asesor de tesis, Dr. José Rafael Peñavera Hernández.

A mis hermanos de generación, Zindi y Alfonso.

A los residentes que me precedieron por compartirme sus enseñanzas.

Al personal secretarial, técnico y asistencial del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México por su apoyo en este proyecto y en el transcurso de mi especialidad.

## Contenido

1.Marco Teórico: .....	8
1.1 Definición de Neoplasia Neuroendocrina del Tubo Digestivo .....	8
1.2 Epidemiología de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo .....	8
1.3 Características Histopatológicas Generales de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo. ....	8
1.3.1 Tumores Neuroendocrinos Bien Diferenciados.....	10
1.3.2 Tumores Neuroendocrinos Pobrementemente Diferenciados .....	11
1.3.3 Carcinomas adenoneuroendocrinos mixtos (MANEC).....	11
1.3.4 Tumores Neuroendocrinos de células pequeñas y tumores neuroendocrinos células grandes .....	11
1.4 Aspectos de los Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo en cada órgano:12	
1.4.1 Esófago.....	12
1.4.2 Estómago.....	12
1.4.3 Duodeno .....	13
1.4.4 Yeyuno e Ileon .....	14
1.4.5 Apéndice.....	14
1.4.6 Colon y Recto.....	14
1.4.7 Páncreas.....	15
1.5 Clasificación de la OMS de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo18	
1.6 Estadiage de Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo de acuerdo con Union for International Cancer Control (UICC) y la European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS).....	21
1.7 Marcadores Inmunohistoquímicos de Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo:.....	22
1.7.1 Sinaptofisina.....	23
1.7.2 CD56.....	24
1.7.3 Cromogranina A .....	25
2. Justificación.....	27
3. Pregunta de Investigación .....	28
4. Hipótesis .....	29
5. Objetivos .....	29
5.1. Objetivo General.....	29
5.2. Objetivos Específicos.....	30

6. Metodología .....	30
6.1. Diseño de la Investigación .....	30
6.2 Definición de la Población.....	30
6.3 Definición de Variables .....	31
6.4 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información.....	32
6.5 Análisis e Interpretación de Resultados .....	32
7. Recursos.....	32
8. Aspectos Éticos.....	33
9. Aspectos de Bioseguridad.....	33
10. Resultados .....	33
11. Análisis y discusión de resultados. ....	43
12. Conclusiones.....	46
13. Bibliografía .....	47

## **1. Marco Teórico**

### **1.1 Definición de Neoplasia Neuroendocrina del Tubo Digestivo**

Se define como neoplasia neuroendocrina (NEN) a aquellas proliferaciones epiteliales donde la célula muestra diferenciación neural y endocrina, es decir, presentan gránulos secretorios, vesículas sinápticas y tienen la capacidad de secretar productos hormonales. (1)

Las neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo (GI-NEN) son proliferaciones celulares derivadas de la mucosa y submucosa gastrointestinal con diferenciación neural y endocrina. (2)

### **1.2 Epidemiología de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo**

Las neoplasias neuroendocrinas pueden originarse prácticamente en cualquier localización anatómica del cuerpo humano. Dos terceras partes surgen del tracto gastrointestinal y páncreas. En los estudios epidemiológicos se han encontrado cifras de prevalencia estimada de 35 por 100 000 habitantes. (3)

Conforme han avanzado las técnicas de diagnóstico a lo largo del tiempo, el número de casos se ha incrementado. La mayoría de las neoplasias son no funcionantes, ya que no hay síntomas ni signos relacionados a la hipersecreción hormonal. En cuanto a las neoplasias endocrinas funcionantes, es característico el gastrinoma asociado a síndrome de Zollinger-Ellison y el insulinoma dentro de los más frecuentes. El síndrome carcinoide debido a una hipersecreción serotoninérgica es infrecuente, pero es más raro en el originado del páncreas, ya que es característico de neoplasias ampliamente metastásicas al hígado. (3)

En 30% de los casos el tumor debuta como enfermedad metastásica a hígado o ganglios linfáticos, si no es desconocida su existencia. (4)

La frecuencia en cuanto a la ubicación de las neoplasias neuroendocrinas a lo largo del tubo digestivo varía en la población asiática y occidental. En Estados Unidos el intestino delgado es el más afectado con 38%, seguido del recto (34%), colon (16%), estómago (11%) y sitios desconocidos (1%), en base al análisis hecho por la Base de Datos de Vigilancia de Resultados Finales de Epidemiología. En tanto en Corea, el recto con 48% es la principal localización de las neoplasias neuroendocrinas, seguido del estómago (15%), páncreas (9%), colon (8%), intestino delgado (8%), hígado (7%), apéndice (3%) y tracto biliar (2%). La incidencia ha aumentado debido principalmente a la detección de neoplasias neuroendocrinas en el colon y páncreas, no obstante, en la población coreana permanece sin cambios. (5)

### **1.3 Características Histopatológicas Generales de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo.**

El tracto gastrointestinal y biliopancreático poseen células neuroendocrinas que forman el sistema endocrino difuso. Constituyen menos del 1% de las células epiteliales de la mucosa y se distribuyen tanto en la superficie y en la base de las glándulas foveolares

gástricas y en las criptas del intestino delgado y del intestino grueso. Estas células contienen gránulos secretores que están repletos de hormonas peptídicas. En el páncreas, las células endocrinas constituyen el 1 al 2 % del volumen pancreático adulto, organizados en nidos bien circunscritos, los islotes de Langerhans. También se encuentran escasas células en los conductos interlobulares y son menos frecuentes en los más pequeños. Los productos secretados son insulina, glucagón, somatostatina, polipéptido pancreático y péptido intestinal vasoactivo. Predominan las células beta, que producen insulina y que constituyen el 60 al 80% de los islotes, con una distribución de tipo central. Las células productoras de glucagón constituyen del 10 al 15% y se acomodan en la periferia. Las células restantes se distribuyen difusamente. El epitelio biliar extrahepático también contiene células endocrinas en la porción intrapancreática del conducto biliar común. (6)

Es importante conocer la distribución normal de las células endocrinas en el tracto gastrointestinal y en el biliopancreático ya que hay una fuerte correlación entre la localización específica de cierta neoplasia neuroendocrina y la localización habitual de la célula productora de la hormona específica. Pero hay excepciones como la notable ausencia de neoplasias neuroendocrinas de células productoras de de colecistoquinina, polipéptido inhibidor gástrico, motilina y secretina en intestino delgado. Los tumores aberrantes productores de gastrina en el páncreas tampoco pueden ser explicados en base a la distribución normal de las células endocrinas en el tubo digestivo. (7)

Distribución de las células neuroendocrinas en el tracto gastrointestinal y páncreas		
Tipo celular	Producto secretado	Localización
$\alpha$	Glucagon	Páncreas
$\beta$	Insulina	Páncreas
$\delta$ (D)	Somatostatina	Estómago, intestino delgado, páncreas, apéndice, recto y colon
EC	Serotonina	Estómago, intestino delgado, páncreas, apéndice, recto y colon
ECL	Histamina	Estómago
G	Gastrina	Estómago, duodeno
I	Colecistoquinina	Intestino delgado
K	Péptido inhibidor gástrico	Intestino delgado
L	Péptido 1 semejante a glucagón, péptido YY	Recto, intestino delgado
M	Motilina	Intestino delgado
N	Neurotensina	Intestino delgado
P/D1	Grelina	Estómago, intestino delgado, apéndice, colon
PP	Polipéptido pancreático	Páncreas
S	Secretina	Intestino delgado, páncreas
VIP	Péptido intestinal vasoactivo	Páncreas, estómago, intestino delgado, apéndice, colon y recto

Tomado y modificado de Kim J, MD, Mo Hong S, Gastrointestinal and Pancreatobiliary Neuroendocrine Tumors, Arch Pathol Lab Med 140, 2016.

Las neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo son un grupo heterogéneo de proliferaciones celulares. Una forma fácil de entender su comportamiento se basa en su grado de diferenciación. Así, se distinguen fácilmente dos grupos de neoplasias, los tumores neuroendocrinos bien diferenciados y los tumores neuroendocrinos poco diferenciados. Una tercera categoría engloba aquellas neoplasias con un componente extra, normalmente epitelial, ya sea adenoma, adenocarcinoma o carcinoma de células

escamosas. Constituyendo el grupo denominado adenocarcinomas mixtos neuroendocrinos (MANECs). (8)

Macroscópicamente las NEN son tumores sólidos blanco grisáceo a amarillo de aspecto nodular o polipoide. La mucosa suprayacente normalmente está intacta o con ulceración focal, esto en cuanto a los bien diferenciados. En caso de los tumores neuroendocrinos poco diferenciados son masas más grandes y ulceradas como en los carcinomas convencionales. (2)

Se han presentado varias propuestas con respecto a la clasificación y nomenclatura de las neoplasias neuroendocrinas, que a menudo difieren en el uso de terminología específica y criterios para la clasificación y estadificación. En la clasificación de la OMS de 2010, las neoplasias neuroendocrinas se clasifican en tumores neuroendocrinos bien diferenciados (grado bajo a intermedio) y carcinomas neuroendocrinos (NEC) mal diferenciados (grado alto) basados únicamente en la tasa de proliferación de tumores. Los tumores neuroendocrinos (NET) bien diferenciados son relativamente indolentes, mientras que los NET mal diferenciados son altamente agresivos; La terapia también difiere significativamente entre estas dos categorías de neoplasias. Sin embargo, las características clínico-patológicas y genéticas de los NET son, en gran parte, desconocidas, lo que lleva a una inconsistencia en su manejo clínico. (9)

### **1.3.1 Tumores Neuroendocrinos Bien Diferenciados**

Los tumores neuroendocrinos bien diferenciados (WD-NET) son bien circunscritos, encapsulados a veces (en páncreas), al corte homogéneos uniformes. En cuanto a histología se caracterizan por un patrón organoide con células proliferantes uniformes, de moderada cantidad de citoplasma de aspecto granular eosinófilo con numerosos gránulos secretores. Los núcleos son redondos, con cromatina aglomerada o finamente granular con aspecto de “sal y pimienta” y pequeños nucléolos a veces visibles. La atipia nuclear es moderada y en ocasiones es posible encontrar núcleos grandes atípicos, pero sin que esto se relacione con agresividad biológica. (3)

La mayoría de las neoplasias neuroendocrinas gastroenteropancreáticas se clasifican en la categoría bien diferenciada porque conservan la arquitectura organoide típica de los órganos neuroendocrinos y tienen una tasa de proliferación relativamente baja. Se afirma que todos los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos, con la excepción de los microadenomas pancreáticos y los tumores neuroendocrinos tipo 1 secretores de gastrina en el estómago, son neoplasias potencialmente malignas. Se han utilizado diferentes clasificaciones para distinguir los tumores neuroendocrinos puros de los tumores endocrino-exocrinos mixtos, y para distinguir dentro de los tumores neuroendocrinos puros diferentes categorías según su comportamiento (TNE bien diferenciadas con comportamiento benigno, TNE bien diferenciadas con comportamiento incierto, bien diferenciadas TNE con comportamiento maligno y carcinomas endocrinos pobremente diferenciados con comportamiento maligno de alto grado). Estas clasificaciones se basaron en su sitio de origen, tamaño, extensión tumoral macroscópica

y / o microscópica, invasión vascular y / o actividad proliferativa (índice Ki-67), así como sus características clínicas / funcionales sindromática. (10)

### **1.3.2 Tumores Neuroendocrinos Pobrementemente Diferenciados**

Los tumores neuroendocrinos pobremente diferenciados (PD-NEC) son neoplasias agresivas. El origen de las ECN mal diferenciadas del páncreas es incierto. Las hipótesis son que derivan de precursores ductales, de neoplasias neuroendocrinas bien diferenciadas o de novo. Macroscópicamente son poco delimitadas, pueden contener áreas de necrosis y hemorragia con infiltración de pared intestinal o del tejido peripancreático. Es muy frecuente encontrar metástasis al momento del diagnóstico. Microscópicamente se puede observar una proliferación celular en nidos grandes con áreas de necrosis geográfica. Comúnmente se han dividido de acuerdo al tamaño celular, es decir células pequeñas o grandes. Las células de la categoría de células pequeñas tienen un tamaño de 2-4 veces el tamaño de un linfocito, forma redonda a oval, con escaso citoplasma, de bordes celulares indistinguibles una de la otra, núcleos hiper cromáticos con nucléolos incóspicuos. El subtipo de células grandes la célula es de gran tamaño, con núcleos vesiculares con nucléolos prominentes y abundante citoplasma eosinófilo. La razón núcleo citoplasma es menor con respecto al subtipo de células pequeñas. Crecen en grandes grupos conservando el patrón organoide. Las mitosis son frecuentes, también los cuerpos apoptóticos y la invasión linfovascular y perineural. La naturaleza neuroendocrina debe ser confirmada con pruebas especiales (3) (9)

### **1.3.3 Carcinomas adenoneuroendocrinos mixtos (MANEC).**

Son neoplasias celulares con componente mixto tanto neuroendocrino como epitelial, donde al menos un componente representa el 30% del total de la lesión. El espectro morfológico es amplio y combina todas las posibilidades en cuanto a los tumores neuroendocrinos (NET) y los tumores epiteliales, dando un comportamiento clínico variable determinado y estratificado de acuerdo al grado de malignidad de cada componente. (11)

### **1.3.4 Tumores Neuroendocrinos de células pequeñas y tumores neuroendocrinos células grandes**

Con la descripción de los carcinomas neuroendocrinos de células grandes, que han sido mejor descritos y caracterizados en el pulmón y posteriormente reconocidos en el tracto gastrointestinal, el espectro de los carcinomas neuroendocrinos mal diferenciados se ha ampliado para incluir tanto el carcinoma de células pequeñas como el carcinoma neuroendocrino de células grandes. Según la evidencia de sitios pulmonares y extrapulmonares, parece que estos carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados son neoplasias muy agresivas con una tendencia a metastatizar tempranamente y pobre pronóstico, ya sea que se presenten como un patrón histológico puro o como un componente de un carcinoma combinado. Los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados, especialmente el subtipo de células pequeñas, también suelen tener una

respuesta favorable pero de corta duración a la quimioterapia basada en platino. (12)  
(13)

Hallazgos morfológicos de neoplasias neuroendocrinas bien y pobremente diferenciadas			
	NET bien diferenciadas	NET pobremente diferenciadas	
		Células pequeñas	Células grandes
<b>Patrón de crecimiento</b>	Insular, trabecular, acinar	Difuso	Difuso/organoide
<b>Tamaño celular</b>	Medio	Pequeño/medio	Grande
<b>Citoplasma</b>	Moderadamente abundante Finamente granular Eosinofílico	Escaso	Abundante Eosinofílico
<b>Núcleo</b>	Redondo Cromatina dispersa (sal y pimienta)	Redondo u oval Hiper Cromático	Redondo Vesicular
<b>Nucléolo</b>	Pequeño	Inconspicuo	Evidente
<b>Necrosis</b>	Ausente o focal	Áreas grandes	Áreas grandes
<b>Mitosis</b>	0-20 mitosis por 10HFP	>20 mitosis por 10 HFP	>20 mitosis por 10 HFP
<b>Índice Ki67</b>	<20%	>20%	>20%

Tomado y modificado de Uccella S, Sessa F, La Rosa S. Diagnostic Approach to Neuroendocrine Neoplasms of the Gastrointestinal Tract and Pancreas. Turk Patoloji Derg. 2015, 31:113-127)

## 1.4 Aspectos de los Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo en cada órgano:

### 1.4.1 Esófago

La mayoría de las neoplasias neuroendocrinas a este nivel son carcinomas, siendo los NET raros. La localización es más frecuente en el tercio medio e inferior. Pueden aparecer como hallazgos incidentales al encontrar un esófago de Barret y adenocarcinoma o como tumor único polipoide o nodular. Con estudios de Inmunohistoquímica se aprecia fuerte marcación celular de cromogranina y sinaptofisina y en algunos serotonina, glucagón o polipéptido pancreático. El subtipo de células pequeñas se parece histológicamente similar al carcinoma de células pequeñas de pulmón, en los cuales el factor de transcripción tiroideo (TTF-1). En cuanto al carcinoma neuroendocrino de células pequeñas también expresan este factor de transcripción en un 33 a 71%. Se ha documentado también la existencia de carcinoma de células escamosas con NEC. Se ha detectado hiperplasia de células endocrinas en mucosa de Barret y en adenocarcinomas, lo que apoya la hipótesis de que las NEN del esófago, el esófago de Barret y los adenocarcinomas pudieran originarse de la misma célula. (2)

### 1.4.2 Estómago.

En esta localización predominan los NET de tipo enterocromafin productores de histamina. (14)

Los NET gástrico se clasifican en tres tipos. El tipo 1 es el más común abarcando 70 al 80% y están relacionados con la gastritis crónica atrófica con localización en el cuerpo y fondo del estómago como masas polipoides usualmente menores de 10 mm. Los NET de tipo 2 gástricos representan el 5-6% y se localizan en el fondo y cuerpo gástrico como múltiples tumores pequeños de mucosa y submucosa que igualmente miden menos de 10 mm. Este tipo de NET está implicada tanto en el síndrome de Zollinger-Ellison (ZES) como de MEN-1. Los NET de tipo 3 representan el 14 al 25% de los ENT gástricos encontrándose en cualquier porción del estómago, son solitarios, polipoides, de mayor tamaño que el tipo 1 y 2. En un tercio de los casos se encuentra que el tumor mide más de 2 cm al diagnóstico. (15)

Se ha visto que el tipo 1 y 2 se relaciona con hiperplasia de células enterocromafin e hipergastrinemia. El tipo 3 no se ha relacionado a estas condiciones. En los tres tipos se considera que se originan a partir de las células enterocromafines productoras de histamina donde se puede demostrar por Inmunohistoquímica el transportador vesicular de monoaminas. Los NET tipo 1 y 2 histológicamente muestran patrón nodular y trabecular con índice de proliferación menor al 2%. En cambios los tipos 3 son más agresivos, con patrón más sólido, con tasa alta de proliferación, con invasión profunda, invasión linfática y vascular y asociados a metástasis locales y distantes. (15)

Clasificación de Tumores Neuroendocrinos Gástricos de Células Productoras de Gastrina Semejantes a Enterocromafines			
Clasificación	I	II	III
Incidencia (%)	55-88	8-13	12-23
Multifocalidad	Múltiple	Múltiple	Única
Mucosa Peritumora Oxintica	Atrófica	Hipertrófica	Normal
Tamaño (cm)	0.5-1	<2	>2
Localización	Cuerpo	Cuerpo	Cualquiera
Sexo	H<M	H=M	H>M
Hipergastrinemia	Sí	Sí	No
Hiperplasia Células G antrales	Sí	No	No
Enfermedad Asociada	Gastritis Atrófica crónica	Neoplasia Endorina Múltiple tipo 1 Síndrome Zollinger-Ellison	No
Lesión Precursora	Sí	Sí	No
Clasificación OMS 2010	Grado 1	Grado 1 o 2	Grado 1-3
Metastasis a Ganglio Linfatico (%)	5	30	70

Tomado y modificado de Kim J, MD, -Mo Hong S, Gastrointestinal and Pancreatobiliary Neuroendocrine Tumors, Arch Pathol Lab Med 140, 2016.

### 1.4.3 Duodeno

En esta localización predominan los tumores que producen gastrina, pero son no funcionales. Siguen en frecuencia los productores de somatostatina y paragangliomas gangliocíticos. Son de aparición espontánea o asociados síndrome MEN (14)

En los relacionados al síndrome de Zollinger Ellison el comportamiento es metastásico con tumores infiltrantes profundos y mala evolución clínica. En los NET productores de somatostatina se han relacionado con neurofibromatosis tipo 1 y tienen un patrón

histológico glandular con cuerpos de psammoma. Los paragangliomas gangliocíticos ocurren predominantemente en segunda porción de duodeno típicamente e histológicamente su composición es trifásica con componente neuroendocrino epiteliode, células de tipo Schwann y células ganglionares (16)

No obstante el NET duodenal más frecuente asociado a MEN1 es el productor de gastrina (46%), seguido en frecuencia del productor de somatostatina (18%). Normalmente los NET productores de gastrina se presentan como pequeños tumores polipoides submucosos y en la primera porción del duodeno. Histopatológicamente muestran patrón trabecular y pseudoglandular con expresión Inmunohistoquímica de gastrina. En cuanto a los productores de somatostatina son más frecuentes en el ámpula de Vater. Aproximadamente 43% de los NET productores de somatostatina y 14% de los mismos no asociados a MEN1 se han relacionado con la neurofibromatosis tipo 1. (2)

#### **1.4.4 Yeyuno e Íleon**

Constituyen aproximadamente la mitad de los NET intestinales y predomina en el íleon terminal. Son tumores múltiples en un tercio de los casos. Macroscópicamente se ven como masas sésiles que miden entre 1 y 2 cm o como masas múltiples. Muchos tienen un patrón insular pero también cribiforme y sólido con producción de serotonina de la célula enterocromafin. Con presencia de invasión la mayoría al momento del diagnóstico. Un tercio con metástasis y aquellos con metástasis hepáticas se presentan con síndrome carcinoide caracterizado por enrojecimiento y diarrea al esquivar el aclaramiento portal hepático. Las estructuras de tipo glandular o la empalizada de las capas celulares periféricas se ven ocasionalmente. La positividad de la proteína S-100 ha sido reportada en células de tipo sustentacular en el 7% de los tumores (2) (14) (16) (17)

#### **1.4.5 Apéndice.**

Los NET del apéndice producen característicamente serotonina pero son no funcionales y son descubiertos accidentalmente tras una apendicectomía por apendicitis y con un tamaño por lo tanto de 1 a 2 cm, que al extirparlo curan al paciente. (14)

Los tumores carcinoides de células caliciformes están compuestos por células tumorales con diferenciación neuroendocrina parcial, mezclados con nidos de células en anillo de sello, con displasia leve a moderada. Estas células exhiben focalmente positividad para sinaptofisina y cromogranina A, y CD56 y son difusamente positivas para citoqueratina 20 y MUC2.64-66. Este subtipo es más agresivo que otros tipos de carcinoides del apéndice, con 20% de estos con metástasis al diagnóstico. Son subclasificados de acuerdo a la histología e inmunofenotipo mucinoide como carcinoides de células caliciformes, de anillo de sello y poco adenocarcinoma poco diferenciado, dependiendo la supervivencia del subtipo específico. (18)

#### **1.4.6 Colon y Recto.**

Los NET colorrectales son de tipo productor de serotonina y predominio rectal de células de tipo L, los cuales son de potencial incierto de acuerdo a la clasificación de la OMS de

2010. En general se manifiestan macroscópicamente como una única masa submucosa lisa nodular o polipoide con mucosa de aspecto normal. Cerca de 80% de los NET rectales no sobrepasa el centímetro. Los NET de células L se detectan en 50 a 80% de los NET rectales con presencia de marcadores positivos para GLP1, GLP2, PYY Y PPY. (16)

Histológicamente forman un patrón trabecular. El comportamiento biológico depende del fenotipo inmune de las células L, el tamaño del tumor (1 o 0.1 cm), grado tumoral, extensión y metástasis ganglionares (16) (19)

La frecuencia de los NET rectales es mayor que la de los de presentación colónica. Macroscópicamente son masas sésiles, solitarias, semipedunculados con epitelio suprayacente intacto. En las neoplasias de mayor tamaño puede haber ulceración. En microscopia el patrón es trabecular con positividad para fosfatasa ácida prostática, sinaptofisina y negativos para cromogranina A. En cuanto a la porción del colon más afectada, predominan en el ciego. Con patrón microscópico nodular y trabecular o mixto, con producción de serotonina. En cuanto a los NEC son más comunes en el colon derecho que en el recto, asociados con frecuencia a adenomas o adenocarcinomas. (2) (12)

#### **1.4.7 Páncreas**

Los NET pancreáticos representan alrededor del 3% de las neoplasias en esta ubicación.

Macroscópicamente muestran un patrón de crecimiento expansivo con bordes empujantes y al corte son amarillo a marrón. Algunos presentan hemorragia. 10% son quísticos uniloculados rodeados por bordes fibrosos y con contenido líquido color paja. Microscópicamente, los NET quísticos tienen bandas fibrosas rodeándolos. Normalmente son solitarios, a menos que se asocien a algún síndrome donde son múltiples (20)

Los NET pancreáticos pueden ser funcionales o no basados en los síntomas que producen. Dentro de los funcionales El primero en frecuencia es el insulinoma, seguido por glucagonomas, gastrinomas y somatostatonomas. El insulinoma tiene un comportamiento clínico casi indolente, no obstante, los demás se asocian a alto potencial maligno. Dentro de sus variaciones morfológicas histológicas, se pueden apreciar células claras, tipo oncocíticos y pleomórficos. Son de importancia estos últimos, ya que al menos el 20% de sus población celular muestra apariencia nuclear bizarra pero no afecta el comportamiento clínico ni la supervivencia y pueden confundirse con adenocarcinoma ductal donde la Inmunohistoquímica juega un papel fundamental en el diagnóstico diferencial. (20)

Existen también en esta ubicación los tumores neuroendocrinos pobremente diferenciados, que suelen ser los más frecuentes, se subclasifican como de células pequeñas y células grandes. Presentan microscópicamente abundantes cuerpos apoptóticos, mitosis y necrosis extensa. Los de células pequeñas forman nidos o láminas con alta relación núcleo citoplasma, núcleos hiper cromáticos, nucléolos inconspicuos y

moldeamiento nuclear. En cuanto a las neoplasias de células grandes se observa que las células neoplásicas son células grandes poligonales con núcleos grandes y nucléolos prominentes, con formación sólida o anidada. En páncreas, predominan los tumores neuroendocrinos de células grandes. (21)

La distinción entre tumores neuroendocrinos de células pequeñas y células grandes es más apropiada para el sistema respiratorio, sin embargo, sigue siendo muy utilizada. Es preferible utilizar algunas características para definir los tumores neuroendocrinos del páncreas como bien diferenciados o mal diferenciados. Un patrón geográfico de necrosis, aunque se observa más comúnmente en los tumores neuroendocrinos pobremente diferenciados, puede estar presente en los bien diferenciados con transformación de alto grado. A pesar de tener una transformación de alto grado, los tumores neuroendocrinos bien diferenciados pueden retener ciertos patrones histológicos organoides, como la arquitectura anidada, trabecular o ligeramente cohesiva con una red vascular relativamente organizada y un tipo hialinizado de fibrosis intratumoral. En contraste, los tumores neuroendocrinos pobremente diferenciados tienen nidos grandes e irregulares expansivos, un patrón de crecimiento infiltrativo con grandes estructuras vasculares orientadas al azar y fibrosis de tipo desmoplásico. Citológicamente, las tumores neuroendocrinos bien diferenciados, particularmente las primarias pancreáticas, suelen tener abundante citoplasma granular, lo que resulta en una baja relación nuclear a citoplasmática y cromatina punteada; Por otro lado los tumores neuroendocrinos bien diferenciados tienen menos citoplasma granular y una mayor relación núcleo/citoplasma con cromatina abierta con nucléolos visibles o núcleos hipercromáticos y moldeados que carecen de nucleólo, por lo que hay características histológicas superpuestas entre las neoplasias neuroendocrinas bien diferenciadas y las pobremente diferenciadas, se puede hacer uso del índice mitótico y los datos clínicos para hacer un diagnóstico más certero (22)

Investigaciones recientes han indicado que existen Tumores Neuroendocrinos del páncreas bien diferenciadas, a pesar de ser poco comunes pueden exhibir características morfológicas típicas de una neoplasia de grado bajo o intermedio pero una tasa de proliferación que supera el umbral para la clasificación de la OMS de una neoplasia neuroendocrina de alto grado (G3) (22)

Algunos casos pueden ser morfológicamente homogéneos y parecer bien diferenciados, por lo que la naturaleza de alto grado solo se descubre por la evaluación de la tasa mitótica o, más comúnmente, el índice Ki67. Otros casos tienen componentes de una NET de grado bajo o intermedio, con una tasa de proliferación baja, ya sea mezclada con la neoplasia neuroendocrina de alto grado o en un foco diferente o muestra previa del paciente; tales casos se han interpretado como una progresión de alto grado de un tumor neuroendocrino bien diferenciado. En ambos escenarios aunque los tumores aparenten ser bien diferenciados si tienen una tasa de proliferación de G3, los tumores no poseen las características clínicas, patológicas y genotípicas de una verdadera de un tumor neuroendocrino pobremente diferenciado (22)

La denominación de adenocarcinomas ductales pancreáticos (PDAC) con diferenciación neuroendocrina ha sido sugerida y respaldada por casos con adenocarcinoma ductal compuesto compuesto y NEC de alto grado (35) (17). Sin embargo, muchas alteraciones genéticas que caracterizan a los PDAC (KRAS, CDKN2A / p16 y SMAD4 / DPC4) no han sido encontradas con frecuencia significativa en los NEC poco diferenciados (4). También se ha propuesto la desdiferenciación de las PanNET bien diferenciadas (35, 17), aunque hasta hace poco las características genéticas de las PanNET bien diferenciadas no estaban lo suficientemente bien caracterizadas como para permitir comparaciones directas. Sin embargo, la secuenciación reciente del genoma completo identificó varios genes frecuentemente mutados en los PanNET bien diferenciados, incluyendo MEN1, mutado en 44.1%; DAXX (proteína asociada al dominio de la muerte) en 25%; ATRX (alfa talasemia / síndrome de retraso mental ligado al cromosoma X) en 17.6%; TSC2 en 8.8% y PTEN en 7.3% (21). Estos descubrimientos recientes brindan la oportunidad de comparar los cambios genéticos en las ECN de células pequeñas y células grandes con estos cambios genéticos conocidos en los PanNET bien diferenciados. (9)

Los carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados ocurrieron con mayor frecuencia en la cabeza del páncreas (47). Además, los NEC mal diferenciados ese estudio tuvieron comportamientos biológicos agresivos, con invasión vascular (94%), invasión perineural (69%) y metástasis en los ganglios linfáticos (88%). Sin embargo, 11 de 18 (61%) pacientes con información disponible sobrevivieron durante 12 meses (mediana de supervivencia 13 meses), posiblemente debido a que este estudio se centró en un grupo de pacientes altamente seleccionados con enfermedad limitada en el momento del diagnóstico y que pudieron someterse a resección quirúrgica. Por el contrario, la mayoría de los casos reportados en la literatura se diagnosticaron en una etapa avanzada de la enfermedad y su supervivencia general varió entre 1 y 12 meses. (9)

La sobreexpresión de la proteína Bcl-2 se observó en todas las nueve NEC de células pequeñas y en el 50% de las NEC de células grandes, pero solo en el 18% de PanNETS bien diferenciados ese presente estudio. Además, nuestros datos indican que la sobreexpresión de Bcl-2 puede explicar la tasa de proliferación relativamente más alta observada en la NEC de células pequeñas en comparación con la NEC de células grandes, y en algunas PanNET bien diferenciadas G2 en comparación con los tumores G1. Bcl-2 es un inhibidor de la apoptosis central y la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 es un hallazgo característico en los carcinomas de pulmón de células pequeñas (20). Se ha demostrado que los agentes quimioterapéuticos, incluido el platino, ejercen sus efectos citotóxicos al inducir la apoptosis a través de la vía mitocondrial (o intrínseca) regulada por Bcl-2 (23). La sobreexpresión de Bcl-2 aumenta la resistencia a la quimioterapia en modelos in vitro e in vivo (12) (49). Además, los niveles altos de proteína Bcl-2 se han asociado con la diferenciación neuroendocrina (20) (1) y un fenotipo maligno más agresivo (22). Ha sido de gran interés evaluar la sinergia terapéutica potencial entre los antagonistas / inhibidores de Bcl-2 y las quimioterapias estándar, y varios antagonistas / inhibidores de Bcl-2, incluido el mesilato de obatoclax (GX15-070), están ingresando a un ensayo clínico en pulmón de células pequeñas. carcinomas (44). Por lo

tanto, el hallazgo de la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 en las ECN poco diferenciadas del páncreas, independientemente de la morfología de las células grandes o pequeñas, sugiere que los antagonistas / inhibidores de Bcl-2 podrían ser una opción de tratamiento viable para estos pacientes. (9)

## **1.5 Clasificación de la OMS de las Neoplasias Neuroendocrinas del Tubo Digestivo**

A finales del 2010 se publicó la nueva clasificación de la OMS de neoplasias gastrointestinales. Se mantuvieron como principales criterios la proliferación, diferenciación, y la ubicación, el tamaño del tumor, la extensión de este y la angioinvasión se pasaron al apartado de la estadificación TNM. La actividad funcional si la hubiere así como la asociación a síndromes hereditarios están agrupadas en el apartado de enfermedades individuales. La clasificación de la OMS de 2010 se base en el principio de que todos los GEP-NEN son potencialmente malignos pero difieren en la capacidad de metástasis. Los NEN bien diferenciados se clasifican juntos en el grupo de tumores neuroendocrinos (NET) tanto G1 como G2. Los mal diferenciados están en el apartado de carcinoma neuroendocrino (NEC). Y este apartado a la vez se clasifica como variante de células pequeñas y de células grandes. En base a su proliferación los NEC son G3, es decir, se encuentran proliferando activamente. Dentro de los grupos especiales se encuentran los adenocarcinomas neuroendocrinos mixtos (MANEC) y las lesiones hiperplásicas y preneoplásicas (14)

La clasificación básicamente toma en cuenta dos puntos basado en la proliferación, y estos son el índice mitótico y el índice Ki67. Algunos autores recomiendan expresar estos índices en base a la examinación de 50 campos de gran aumento (HFP) donde la actividad proliferativa sea intensa. La expresión de la proteína Ki67 está fuertemente asociada con fases de crecimiento y replicación celular, detectables en fase G1, S, G2 y M, mientras que no se encuentra cuando la célula está en reposo (G0). Por estas razones el antígeno Ki67 es confiable al evaluar la fracción de crecimiento en una proliferación celular (8) (23) (24)

Se puede decir que los NET o bien diferenciados corresponden en general a los tumores carcinoides y los NEC son neoplasias poco diferenciadas. Los NET se dividen e G1 y G2 donde el primer grupo se caracteriza por un recuento mitótico de <2 mitosis por 10HFP y con índice de Ki67 menor al 2%, en tanto que los G2 tienen un recuento mitótico de 2-20 mitosis en 10HFP y con un índice de Ki67 de 3-20%. En cuanto al apartado donde el conteo mitótico es alto, es decir mayor a 20 por 10 HFP y con índice de >20% se clasifican como NEC o G3 y subclasificadas de acuerdo a morfología como células pequeñas o células grandes. (8) (12)

Clasificación de los Tumores Neuroendocrinos de la OMS 2010 en tracto gastrointestinal y pancreatobiliar		
Grado	Cuenta mitótica/10 HFP	Índice de proliferación Ki67 (%)
NET Grado 1	<2	<3
NET Grado 2	2-20	3-20
NEC Grado 3	>20	>20

Tomado y modificado de Kim J, MD, -Mo Hong S, Gastrointestinal and Pancreatobiliary Neuroendocrine Tumors, Arch Pathol Lab Med 140, 2016.

El índice de Ki67 se calcula como el porcentaje de células tumorales positivas a a este antígeno en áreas de mayor densidad de estas células Ki67 positivas o conocidas como puntos calientes. Para evaluar este índice, la OMS requiere 500 a 2000 células tumorales con núcleos claramente teñidos, mientras que ENETS requiere 2000 células. Se ha sugerido que evaluar cortes diferentes y múltiples para tener un índice Ki67 más preciso (8) (12)

Entre una variedad de parámetros pronósticos potenciales analizados en numerosos estudios, el índice de proliferación ha destacado consistentemente por tener un valor pronóstico fuerte, junto con el conteo mitótico. Ki67 ha demostrado ser un marcador confiable de índice de proliferación. Ha estado en práctica durante más de dos décadas, y se usa ampliamente como un factor pronóstico en una variedad de tumores, incluyendo tumores malignos de mama, hematolinfoides y de células gliales. De hecho, dado que cubre un espectro más amplio del proceso mitótico que el huso mitótico observado histológicamente, se cree que el Ki67 es más efectivo que el tedioso y casi siempre irreproducible conteo mitótico. (25)

De acuerdo con la clasificación de la OMS, las neoplasias neuroendocrinas gastroenteropancreáticas se clasifican como G-1 o G-2 en hasta el 84% de los casos y en carcinoma neuroendocrino en el 6% -8%. Recientemente, se ha identificado una proporción de tumores neuroendocrinos que presentan una alta proliferación, ya sea mitosis o índice Ki-67 por encima del 20% y una morfología bien diferenciada, lo que exige una nueva categoría, los tumores neuroendocrinos de grado 3 bien diferenciada se han estimado entre el 5,6% y el 8% del total de las neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo. (26)

Los resultados mostraron que: (1) el método del "globo ocular" era el menos costoso y más rápido (tiempo promedio <1 min.) pero tenía poca fiabilidad y reproducibilidad. (2) El recuento automatizado fue el más costoso y menos práctico, con un gran impacto en el tiempo de respuesta (limitado por la accesibilidad de la máquina y el personal) y, lo que es más importante, tenía imprecisiones en el recuento de material no deseado. (3) El recuento manual visual no tuvo costo adicional, promedió 6 minutos, pero resultó poco práctico y poco reproducible. (4) La imagen capturada / impresa por la cámara fue la más confiable, tuvo la mayor reproducibilidad, pero tomó más tiempo que el método del "globo

ocular". En conclusión, basándose en su comparativamente baja relación costo / beneficio y reproducibilidad, la imagen capturada / impresa de la cámara parece ser la más práctica para calcular el índice Ki67. Aunque el conteo automatizado generalmente se anuncia como el estándar de oro para el cálculo del índice, en este estudio no fue tan preciso ni rentable como la imagen capturada / impresa de la cámara y fue altamente dependiente del operador. Se concluye que el método del 'globo ocular' produce resultados altamente inexactos y poco confiables, y no se recomienda para uso de rutina. (25)

Entre las cuatro metodologías para el recuento de Ki67 en tumores neuroendocrinos pancreáticos, el método que se encontró que es el más preciso, reproducible y práctico es aquel en el que se realiza el recuento manual en imágenes impresas capturadas por la cámara de puntos calientes del tumor. Aunque el conteo automatizado es muy preciso y fácil de realizar, este estudio demostró que el método de conteo de imágenes capturadas / impresas fue más preciso, más barato, contó solo las células tumorales seleccionadas y tuvo el mayor acuerdo interobservador. También tenía la relación costo /beneficio más baja. Las desventajas del método de conteo de imágenes capturadas / impresas de la cámara incluyeron la cantidad de tiempo requerido para completar el conteo y el requisito de equipo (cámara e impresora), que puede no estar disponible en todas las instituciones. Sin embargo, sigue siendo mucho más barato y más accesible que el método automatizado. (25)

Aunque útil y fácil de usar esta clasificación tiene al menos dos puntos críticos que el patólogo debe tener en cuenta. Primero, la separación de NET G1 y G2 se basa en diferencias sutiles de tasa de proliferación pero que confiere valores pronóstico diferentes. El segundo punto crítico es en cuanto la morfología y el índice de proliferación son discordantes. Aunque la distinción de NEN en poco y mal diferenciadas es fácil en la mayoría de los casos, hay un subconjunto de casos con morfología de bien a moderadamente diferenciada y un alto índice de proliferación. (27)

Además de los problemas de cuantificación, otros factores, como el proceso de fijación, la técnica de tinción o el anticuerpo utilizado, pueden afectar la reproducibilidad de los valores de Ki-67. También se ha demostrado variación cuando el análisis histológico se realiza mediante aspiración con aguja fina guiada por ultrasonido endoscópico. (10)

Sin embargo, ahora ha quedado claro que el grupo G-3 es heterogéneo, que comprende, además de las ECN mal diferenciadas, los tumores que conservan las características citoarquitectónicas de los tumores gastroenteropancreáticos bien diferenciados, a pesar de un recuento de mitosis / Ki-67 superior al 20%. Las NET del grupo G-3 no parecían ser tan agresivas como las ECN mal diferenciadas clásicas, pero mostraron un resultado peor que el grupo G-2. El pronóstico es considerado como intermedio entre NET G-2 y NEC. Por lo tanto, recientemente pareció ser de interés clínico que los patólogos los distinguieran a ambos de las ECN por su patrón bien diferenciado y su menor recuento de mitosis / Ki-67, que generalmente oscila entre el 20% y el 50%, pero también de G-1/2 NET . En algunos casos, la distinción morfológica con NEC (es decir, la distinción

entre NEN bien y mal diferenciados) siguió siendo problemática en el caso de una heterogeneidad tumoral importante, con áreas limitadas que muestran patrones y / o necrosis menos diferenciados. (10)

Se requieren estudios adicionales para evaluar el pronóstico y las características de estos pacientes. Los NET G-3 se encuentran principalmente en el estómago, el páncreas y el colon / recto. Los médicos deben ser conscientes de la posibilidad de NET G-3 en lugar de NEC cuando un tumor se localiza en el páncreas o en el estómago, justificando el nuevo análisis de la muestra histopatológica inicial. De manera similar, el síndrome secretor, el SRS positivo, el índice Ki-67 entre 20% y 40% y una cantidad baja de necrosis deberían sugerir un NET G-3 en lugar de un NEC. NET G-3 no funcionó en más del 75% de los casos. (10)

### **1.6 Estadiage de Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo de acuerdo con Union for International Cancer Control (UICC) y la European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS)**

Ambas asociaciones han propuesto dos diferentes clasificaciones TNM. Hay diferencias entre ambas no tan grandes. El sistema de estadificación ENETS se aplica a todos los grados de NEN. En cuanto a la séptima edición del sistema de estadificación UICC, G1-carcinoide (ENETS G1 y G2) tiene una estadificación específica según el sitio de origen, mientras que el carcinoma de células grandes y de células pequeñas (GI-NEC) y todos los páncreas Los NEN se organizan como un carcinoma convencional. Por eso se ha observado discrepancia en cuanto a la etapa T (estadio tumoral primario) entre los sistemas ENETS y UICC en 18%. En el caso de GI-NEN, las definiciones de T-stage para NEN apendicular y gástrico difieren entre los dos sistemas de estadificación (28) (29)

Comparación del estadio T de las NEN gástricas entre la ENETS y la UICC	
ENETS	UICC
Tis Tumor in situ/displasia (<0.5 mm)	Mucosa 0.5 mm
T1 Tumor invade lámina propia o submucosa y ≤1cm	Mucosa 0.5-1 cm o submucosa ≤1cm
T2 Tumor invade la muscular propia o subserosa >1cm	Muscular propia o >1cm
T3 Tumor penetra la serosa	Subserosa
T4 Tumor invade estructuras adyacentes	Perfora serosa; estructuras adyacentes

Tomado y modificado de Hirabayashi K, Zamboni G, Nishi T, Tanaka A, Kajiwara H Nakamura N, Histopathology of gastrointestinal neuroendocrine neoplasms *Frontiers in Oncology*. 3 (2) 2013.

Comparación Estadio T de NENs de apéndice entre PNETs y UICC		
	ENETS	UICC
T1	Tumor <1cm invadiendo submucosa y muscular propia	=<2cm
T2	Tumor =<2cm invade submucosa, muscular propia y/o mínimamente subserosa/mesoapéndice (hasta 3mm)	>2-4 cm, ciego
T3	Tumor >2cm y/o invasión mayor a 3mm en subserosa/mesoapéndice	>4 cm; íleon
T4	Tumor invade peritoneo y otros órganos	Perfora peritoneo, órganos y estructuras

Tomado y modificado de Hirabayashi K, Zamboni G, Nishi T, Tanaka A, Kajiura H Nakamura N, Histopathology of gastrointestinal neuroendocrine neoplasms *Frontiers in Oncology*. 3 (2) 2013

			Grado		
Otros			WD NET Bajo grado	WD NET Grado intermedio	PD NE carcinoma
			Carcinoma NE bien diferenciado	Carcinoma NE moderadamente diferenciado	Carcinoma NE pobremente diferenciado
OMS Pulmón			Carcinoide típico	Carcinoide atípico	Carcinoma NE de alto grado de células pequeñas/grandes
ENETS			G1	G2	G3
Estadio	Localizado	T1 T2 T3	Tumor neuroendocrino bien diferenciado		Carcinoma neuroendocrino pobremente diferenciado
	Regional	N1	Carcinoma neuroendocrino bien diferenciado		
	Distante	M1			
SEER		AJCC			

Tomado y modificado de Klimstra DS, Modlin IR, Adsay NV, et al. Pathology reporting of neuroendocrine tumors: application of the Delphic consensus process to the development of a minimum pathology data set. *Am J Surg Pathol*. 2010 y 300–313, 34(3):

## 1.7 Marcadores Inmunoquímicos de Tumores Neuroendocrinos del Tubo Digestivo:

Los marcadores de Inmunoquímica que han mostrado más utilidad en definir la naturaleza neuroendocrina de una neoplasia son la cromogranina y la sinaptofisina. La inmunomarcación de estos dos marcadores es esencial al diagnosticar las NEN poco diferenciadas, en las que morfológicamente con la tinción habitual de hematoxilina y eosina no es fácil definir el fenotipo. También se ha recomendado inmunomarcarse en caso de las neoplasias bien diferenciadas, donde la morfología a veces no es sencilla y en tumores que se presentan como metástasis donde el origen es desconocido. (30)

A lo largo del tiempo se han propuesto diversos marcadores neuroendocrinos generales, algunos de ellos son la enolasa neural específica (NSE), el producto de la proteína 9.5 (PGP9.5), CD56 (molécula de adhesión de células neurales, N-CAM) y CD57 (Ieu7). Aunque no se aconseja usar de forma rutinaria estos marcadores debido a su especificidad variable. (30)

La sinaptofisina es considerada como el marcador neuroendocrino más sensible y la cromogranina A el más específico. Se recomienda usar ambos en la práctica común pero el CD56/NCAM1, Leu7 y la enolasa neuronal específica no por su baja especificidad (31) La mayoría de las NEN expresan al menos un marcador de inmunohistoquímica de tipo neuroendocrino, por lo que se ha acordado el uso de Inmunohistoquímica en la mayoría de los casos sospechosos, incluso en las biopsias de enfermedad metastásica. No hubo acuerdo en que en todos los casos se utilizara. Ya que algunos autores consideran su innecesario uso en casos de NET bien diferenciados o llamados tumores carcinoides de íleon, apéndice y estómago (con hipergastrinemia) o ciertos tumores pancreáticos como insulinomas clínicamente funcionantes. Se alentó su uso en casos con características histológicas inusuales o poco claras.

Se hizo un consenso donde los autores solamente recomendaban dos inmunotinciones rutinarias, la cromogranina A y la sinaptofisina. La cromogranina B, CD56, CD57 y enolasa neuronal específica no se recomendaron de forma rutinaria, especialmente la última. (31)

También se ha llegado al consenso de que no deben utilizarse rutinariamente las citoqueratinas, no obstante, los NEN mejor diferenciados son positivos para citoqueratina 8, 18 y CAM 5.2 y que de igual forma p53 no fue contribuyente para el diagnóstico. Tampoco se recomienda el uso de tinciones específicas para hormonas peptídicas o bioaminas, ya que aunque la clínica indique funcionalidad, en el reporte histopatológico no debe mencionarse este aspecto, y más bien debe valorarse clínica y serológicamente. Debe hacerse hincapié que no hay morfológicamente forma de distinguir entre un NEN funcional y no funcional, independientemente de varios factores como lo son el tamaño, el estadio y el grado. Todos deben ser considerados en sin una sola entidad. Sí debe considerarse hacer estudios para demostrar péptidos específicos en caso de casos funcionales de una neoplasia neuroendocrina múltiple (MEN1) con más de un NET pancreático. (31)

### **1.7.1 Sinaptofisina**

La sinaptofisina es una proteína componente de la membrana vesicular presináptica que por tanto es encontrada ampliamente en células y neuronas neuroendocrinas. Su inmunorreactividad es generalmente difusa tanto en neoplasias neuroendocrinas bien como mal diferenciadas. Se ha demostrado la expresión de sinaptofisina en todos los carcinomas medulares de tiroides estudiados, en la gran mayoría de los carcinoides bronquiales y gastrointestinales. (30)

La caracterización bioquímica de esta proteína en el tejido nervioso ha indicado que su presencia vesículas neurotransmisoras es en forma homo-oligomérica y se une con afección al calcio Se propuso que la sinaptofisina puede jugar un papel significativo en la liberación de neurotransmisores dependiente de  $Ca^{2+}$ , que concuerda con el característico punteo presente en los TNE positivos a esta inmunotinción y se asocia con la presencia de dichas estructuras. Sin embargo, a diferencia de las neuronas, las

vesículas que contienen sinaptofisina de otras células NE, incluidas las de la médula suprarrenal normal y los islotes pancreáticos, no se concentran en ciertas regiones distintas de la periferia celular como en las sinapsis, pero aparecen distribuidos de manera bastante uniforme en todo el citoplasma.

La sinaptofisina se expresa consistentemente en todas las neuronas, células paraganglionares y todos los tipos de células de los islotes pancreáticos, su presencia en neuroblastomas, feocromocitomas y tumores relacionados, e islotes pancreáticos en las neoplasias celulares no son sorprendentes, si se supone que estos tumores se derivan de esas células o sus precursores. Sin embargo, es notable la expresión consistente de sinaptofisina en todo el rango de neoplasias de NE, con la consiguiente inferencia de que la expresión de sinaptofisina en las neoplasias es independiente de marcadores característicamente neurales. La presencia de sinaptofisina tampoco está relacionada con la expresión de algún neuropéptido hormonal.

Del mismo modo, no podemos decidir si en tales situaciones, la sinaptofisina surge durante la transformación celular y/o el crecimiento maligno en ciertas poblaciones neoplásicas NE, mientras que otros tumores NE y tejidos sanos lo expresan.(46)

Por otro lado, aunque la sinaptofisina ha demostrado ser un marcador altamente sensible para la diferenciación neuroendocrina, su especificidad se reduce por el hecho de que algunos neoplasias no neuroendocrinas, como los adenomas y carcinomas suprarrenales, y el tumor pseudopapilar sólido del páncreas también son inmunorreactivos. para este marcador. (3)

### **1.7.2 CD56**

La molécula de adhesión de células neurales CD56 (NCAM) es un miembro de una gran familia de glicoproteínas de la superficie celular que comparten dominios estructurales con la inmunoglobulina y fibronectina tipo III. El CD56 humano está codificado por un gen de copia única en el cromosoma 11 que abarca más de 314 kb y contiene 19 exones principales, así como 6 exones más pequeños adicionales hay tres isoformas principales que difieren en su asociación de membrana y sus dominios intracelulares (32)

Originalmente, el CD56 se caracterizó como un mediador de la adhesión célula-célula, pero ahora también se considera un receptor de señalización que afecta la adhesión celular, la migración, la proliferación, la apoptosis, la diferenciación, la supervivencia y la plasticidad sináptica. La señalización mediada por CD56 se puede activar después de la interacción homofílica o mediante la dimerización heterofílica en un amplio rango de otras moléculas, incluida la molécula de adhesión estrechamente relacionada L1, el factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR 1), el neurotrófico derivado de la línea celular glial factor, y sulfato de proteoglicanos (CSPG y HSPGs). (32)

Fisiológicamente, CD56 se expresa abundantemente tanto en el desarrollo como en el cerebro humano adulto y desempeña un papel fundamental en la neurogénesis, la

migración neuronal y el crecimiento de las neuritas, también actúa en el sistema inmunológico y neuroendocrino. (32)

La inmunotinción para CD56 puede ser positiva en un amplio número de enfermedades, por ejemplo meduloblastoma, astrocitoma, linfomas malignos de células NK /T y carcinomas neuroendocrinos. Su sobreexpresión en neoplasias malignas se asocia con un tipo de tumor agresivo, una respuesta terapéutica inadecuada y un tiempo de supervivencia menor, por lo que su presencia en los tumores neuroendocrinos además de ser diagnóstica puede permitir conocer la agresividad de cada caso (32)

Además, los niveles séricos aumentados de CD56 se asocian con la progresión de la demencia del tipo de Alzheimer y el mieloma múltiple, probablemente por su relación con la neurogénesis. (32)

### **1.7.3 Cromogranina A**

La cromogranina A (CgA), también llamada proteína secretora de paratiroides, pertenece a la familia de las graninas, al igual que la cromogranina B (algunas veces llamada secretogranina I) y la secretogranina II (algunas veces llamada cromogranina C, la secretogranina III, IV, V (o proteína neuroendocrina 7B2), VI (o NESP55) y VII (o VGF). (33)

Se trata de una glucoproteína termoestable, hidrosoluble, ácida (debido a la presencia de ácido glutámico y ácido aspártico) de 439 aminoácidos y 49 kDa que presentan una secuencia de 8-10 pares de aminoácidos básicos, cuyo gen se localiza en el locus 14q32.12. Pertenece a la familia de las llamadas graninas, y forman parte de los gránulos de núcleo denso en el citoplasma de células neuroendocrinas. La cromogranina A es procesada intragranularmente mediante la proteína convertasa PC1/3, PC2, la catepsina y, en menor grado, en el medio extracelular por la plasmina, este mecanismo se mantiene en células tumorales. También puede degradarse a péptidos más pequeños activos como pancreastatina, catelastina y vasostatinas I y II. (34) (35)

Las graninas se almacenan conjuntamente con moléculas contenidas en gránulos densos, propios de neutrófilos, polimorfonucleares, neuronas, células endocrinas y neuroendocrinas y se secretan conjuntamente mediante exocitosis por la vía regulada, esta se caracteriza por que la célula transporta proteínas recientemente sintetizadas y tiene una liberación inmediata, pueden permanecer un largo periodo dentro de la célula, inclusive en tumores. (36)

Los gránulos de secreción densos se caracterizan por tener un proceso de maduración que consiste en la agregación proteica en un ambiente ácido y en presencia de calcio, son susceptibles a ser teñidos con plata. Además en la microscopía electrónica tienen un aspecto denso de electrones, (36)

Las graninas se expresan ampliamente en el sistema nervioso periférico y central, especialmente en cerebelo, la corteza cerebral, septum, hipotálamo, hipocampo,

amígdala. También en el sistema endocrino, con predominio en la médula adrenal, adenohipófisis, páncreas, sistema difuso del tracto gastrointestinal, paratiroides y tiroides; órganos de diferenciación neuroendocrina como la próstata, bazo, timo, corazón, mama, placenta. Además de estar presentes en los neutrófilos y células polimorfonucleares en procesos inflamatorios. (36)

Cada miembro de la familia de las graninas presenta un patrón de distribución distinto, la Cromogranina A se localiza de principalmente en la médula adrenal, el tracto gastrointestinal y la adenohipófisis, anteriormente se consideraba que su expresión en estos tejidos era ubicua, sin embargo su concentración varía de acuerdo con el tejido tisular. Su concentración es mayor en las células cromafines simpaticoadrenales seguidas de forma descendente de adenohipófisis, el páncreas, el estómago, el intestino delgado (yeyuno e íleon), el córtex cerebral frontal, las paratiroides y tiroides. (36)

La cromogranina A tiene funciones intracelulares y extracelulares, dentro de las primeras se encuentra su participación en la síntesis y maduración de los gránulos secretores, especialmente en el aparato de Golgi, cara trans evitando su ruptura debida a presión osmótica, por este motivo se le considera el interruptor on/off de la granulogénesis. También interviene en el flujo de calcio dentro de las células. (37) (36)

En el medio extracelular esta granina inhibe la secreción de diferentes sustancias ya sea en su forma completa o a través de alguno de sus derivados, por ejemplo la catestina, parastatina, pancreastatina, vasostatina. Entre estas sustancias destacan las catecolaminas en la médula adrenal, amilasa pancreática, proopiomelanocortina, paratirina, insulina y la secreción de iones de Hidrógeno por las células parietales del estómago. (36)

La cromogranina A también actúa en diferentes órganos, en el sistema cardiovascular inhibe la contracción muscular arterial y miocárdica, en el tracto digestivo inhibe la peristalsis colónica. En el sistema nervioso central interviene en la nocicepción, en la activación de la microglía, y en la apoptosis de las neuronas corticales. Se ha visto su papel en la regulación del metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas. Es importante mencionar su función en los procesos infecciosos, ya que por un lado tiene un papel antimicrobiano y por otro es un agente antiinflamatorio. Otra de sus funciones es en la angiogénesis y procesos neoplásicos al modular la adhesión de fibroblastos y células endoteliales durante el remodelamiento tisular (38) (39) (40)

Recientemente la Cromogranina A se ha utilizado como biomarcador circulante, para el diagnóstico de la Tumores neuroendocrinos. Su sensibilidad y especificidad varía de 60% a 100%.<sup>5–8</sup> También se ha sugerido que la CgA puede ser una herramienta valiosa para predecir las recurrencias y monitorear el seguimiento. (41)

La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2010 para Tumores Neuroendocrinos, la Sociedad Europea de Tumores Neuroendocrinos (ENETS) y la Sociedad Norteamericana de Tumores Neuroendocrinos informan que la detección inmunohistoquímica (IHC) de CgA debe realizarse para el carácter neuroendocrino de

las células tumorales, lo que refleja la relevancia de esta granina en el diagnóstico histológico de dicha patología. No obstante su especificidad no es absoluta, ya que hay tejidos que normalmente tienen una tinción positiva a esta entre los que destacan las células cromafines, nódulo AV del corazón, los islotes del páncreas, las células principales de la paratiroides, y las células C de tiroides. Existen otras enfermedades en las que hay tinción positiva a la Cromogranina A por ejemplo, tumores ganglionares (carcinoides, carcinoma de células de Merkel, neuroblastoma, carcinoma neuroendocrino, paraganglioma, carcinoma de células pequeñas), hiperplasia neuroendocrina, tumor desmoplásico de células pequeñas, adenoma del oído medio, quiste paratiroideo, adenoma hipofisario, hepatoblastoma, adenocarcinoma de pulmón. (12) (42)

La expresión de cromogranina A, varía de acuerdo con el grado de diferenciación de los TNE, en los poco diferenciados, especialmente en el subtipo de célula pequeña a veces está ausente, en otras ocasiones tiene una tinción focal y puede mostrar una variación marcando solamente perinuclear, en lugar del patrón difuso habitual observado en los TNE bien diferenciados. Por eso no debe usarse solo en el diagnóstico de los TNE pobremente diferenciados. (30)

La presencia o ausencia de la tinción de CgA no es definitiva del diagnóstico de Tumores Neuroendocrinos, su tasa de expresión es del 69 global, sin embargo de acuerdo con la localización anatómica esta pueda variar, ya que es ligeramente mayor en las neoplasias neuroendocrinas pancreáticas que en las neoplasias neuroendocrinas gastrointestinales, siendo más baja en las rectales solamente el 37.8%. Otra circunstancia que modifica su expresión es el estadio de la neoplasia; en tumores en estadio I es de 59%, en estadio II es de 84%, estadio III (52.4%). No se observaron otras correlaciones de la expresión de CgA con variables clínico-patológicas en GEP-NEN Su expresión no se asocia con el pronóstico (43).

Además, la expresión de cromogranina A tiende a ser más débil en los NEN del intestino posterior, pero son positivos para la cromogranina B; por lo tanto, usar anticuerpos contra cromogranina B o una combinación de tinción para cromogranina A y B puede ser útil para el diagnóstico de NEN del intestino posterior (2)

## **2. Justificación**

Los procesos neoplásicos tanto benignos como malignos son enfermedades al que el médico anatomopatólogo se tiene que enfrentar día a día. La incidencia de cáncer se ha incrementado notablemente en la mayoría de las poblaciones del mundo. Mucho de esto

se debe a factores ambientales oncogénicos, pero también a mejores técnicas y procedimientos diagnósticos.

Las neoplasias neuroendocrinas gastrointestinales tienen la característica de presentar una heterogeneidad biológica, clínica y morfológica que representan un desafío para el oncólogo en cuanto a tratamiento y pronóstico para el paciente como para el patólogo en cuanto a su diagnóstico. Un enfoque diagnóstico correcto y preciso con el menor uso de recursos es vital en centros de alta demanda de atención médica.

Dada la diversidad de las neoplasias neuroendocrinas gastrointestinales en cuanto a su morfología y agresividad biológica, el patólogo debe tener en cuenta varios aspectos al momento de la interpretación de la muestra histológica para generar un informe histopatológico correcto y completo, indicando adecuadamente la naturaleza neuroendocrina de la neoplasia y el grado de potencial maligno dependiendo el subtipo.

Es por eso que es muy importante diagnosticar correctamente una neoplasia neuroendocrina, ya que su pronóstico y tratamiento difiere notablemente de las neoplasias epiteliales usuales y de aquellas de origen sarcomatoso en el tracto gastrointestinal.

Los marcadores de Inmunohistoquímica juegan un papel fundamental al confirmar o rechazar el diagnóstico cuando la morfología es limitada. Hay varios inmunomarcadores habituales, no obstante, muchos de ellos tienen controvertida especificidad y otros son poco disponibles. Un estudio de su sensibilidad y especificidad de los principales marcadores usados ayudará a establecer las mejores opciones diagnósticas con el mejor y menor empleo de recursos de Inmunohistoquímica.

### **3. Pregunta de Investigación**

¿Qué abordaje de inmunotinción es mejor para el diagnóstico histopatológico de neoplasia neuroendocrinas del tubo digestivo?

#### **4. Hipótesis**

El uso de un algoritmo secuencial de los inmunomarcadores sinaptofisina, cromogranina y CD56 tiene mejor sensibilidad y especificidad que la inmunotinción simultánea de estos marcadores para el diagnóstico histopatológico de neoplasias gastrointestinales neuroendocrinas.

#### **5. Objetivos**

##### **5.1. Objetivo General**

Determinar el mejor abordaje de inmunotinción para el diagnóstico histopatológico de Neoplasias Neuroendocrinas del tubo Digestivo en el Hospital Juárez de México.

## **5.2. Objetivos Específicos**

Obtener la especificidad y sensibilidad del inmunomarcador Cromogranina para el diagnóstico histopatológico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en muestras histopatológicas del Hospital Juárez de México en el período 2013-2017.

Obtener la especificidad y sensibilidad del inmunomarcador Sinaptofisina para el diagnóstico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en muestras histopatológicas del Hospital Juárez de México en el período 2013-2017.

Obtener la especificidad y sensibilidad del inmunomarcador CD56 para el diagnóstico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en muestras histopatológicas del Hospital Juárez de México en el período 2013-2017.

Calcular la especificidad y sensibilidad netas de la inmunotinción simultánea para los marcadores Cromogranina, Sinaptofisina y CD56 para el diagnóstico histopatológico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en muestras histológicas del Hospital Juárez de México en el período 2013-2017.

Calcular la especificidad y sensibilidad netas de un algoritmo de inmunotinción secuencial para el diagnóstico histopatológico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en muestras histológicas del Hospital Juárez de México en el período 2013-2017.

Comparar la sensibilidad y especificidad netas de un algoritmo de diagnóstico inmunohistoquímicos secuencial con respecto a la inmunotinción simultánea para el diagnóstico histopatológico de neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo.

## **6. Metodología**

### **6.1. Diseño de la Investigación**

Se realizó un estudio descriptivo, epidemiológico y comparativo de casos de pacientes con muestras histopatológicas con reporte de neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo diagnosticada en el Hospital Juárez de México.

### **6.2 Definición de la Población**

Criterios de inclusión:

Casos: se consideraron “casos” aquellos reportes histopatológicos de neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo diagnosticados en el Hospital Juárez de México en el período de 2013 a 2017 con o sin inmunotinción para neoplasia neuroendocrina.

Controles: Ninguno, debido a limitación de reactivo para estudio en pacientes sanos y/o sin alteración histológica mayor en el estudio histopatológico. Se consideró control interno positivo a aquella muestra de tejido anexada a las laminillas histológicas de inmunohistoquímica en los casos estudiados.

#### Criterios de eliminación:

Casos: pacientes con reporte histopatológico de neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo que no cuenten con los inmunomarcadores sinaptofisina, cromogranina y CD56 y de los cuales se carezcan bloques de parafina para realizar estudios de Inmunohistoquímica o el bloque de parafina carezca de tejido por muestra tisular escasa.

Controles: aquellos controles internos en los cuales no se observe una tinción positiva adecuada o tenga artificios por mala técnica de elaboración.

### **6.3 Definición de Variables**

#### Dependientes:

Sensibilidad de cromogranina: porcentaje de casos con inmunomarcación positiva respecto al total de casos con neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

Sensibilidad de sinaptofisina: porcentaje de casos con inmunomarcación positiva respecto al total de casos con neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

Sensibilidad de CD56: porcentaje de casos con inmunomarcación positiva respecto al total de casos con neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

Especificidad de cromogranina: porcentaje de casos negativos a inmunomarcación respecto al total de casos negativos para neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

Especificidad de sinaptofisina: porcentaje de casos negativos a inmunomarcación respecto al total de casos negativos para neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

Especificidad de CD56: porcentaje de casos negativos a inmunomarcación respecto al total de casos negativos para neoplasia neuroendocrina de tubo digestivo.

#### Independientes:

Inmunomarcación positiva o negativa de cromogranina en casos.

Inmunomarcación positiva o negativa de sinaptofisina en casos.

Inmunomarcación positiva o negativa de CD56 en casos.

#### **6.4 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información.**

Para la obtención de casos y controles se buscó en el archivo clínico-patológico del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México reportes histopatológicos con las características mencionadas en los criterios de inclusión en el período de 2013 a 2017.

Una vez obtenidos los casos se elaboró una base de datos donde se registró número de estudio, año, nombre, expediente, edad, sexo, sitio anatómico, reporte histopatológico y reporte de inmunohistoquímica.

A los casos a los que les faltó alguno o todos los inmunomarcadores del estudio se verificó la existencia de bloque de parafina con tejido residual para realización de estudio inmunohistoquímico, sólo en cuanto a cromogranina y sinaptofisina, por limitación de recursos en nuestro hospital. A los que no se encontró bloque de parafina, se excluyeron del estudio.

Se consideró positivo el inmunomarcador que de una tinción positiva débil difusa, positivo fuerte difuso o positivo focal en células neoplásicas.

#### **6.5 Análisis e Interpretación de Resultados**

Los resultados se virtieron en gráficas basados en los principales indicadores epidemiológicos como edad y sexo, así como histopatológicos, como la localización a lo largo del tracto gastrointestinal, el patrón morfológico y la tinción inmunohistoquímica positiva para cromogranina, sinaptofisina y CD56 y el patrón de ésta.

No se realizó análisis estadístico por no contar con casos control. Por lo que el estudio se centró en comentar los aspectos antes mencionados en los casos encontrados en dicho período de tiempo.

### **7. Recursos**

Archivo clínico-patológico del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México.

Laboratorio de Inmunohistoquímica del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México.

Archivo físico de muestras histopatológicas (bloques de parafina y laminillas) del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México.

Las laminillas con muestras histopatológicas se revisaron utilizando microscopio de luz convencional de la marca Leica.

## **8. Aspectos Éticos**

Considerando que el estudio observacional, analítico y retrospectivo de casos y controles de donde el objeto de estudio serán muestras histopatológicas conformadas por bloques de parafina, laminillas y archivo físicos escritos del servicio de Anatomía Patológica, no involucra personas ni divulgación de información personal que ponga en riesgo la integridad de algún paciente, se consideró adecuado y ético su realización.

## **9. Aspectos de Bioseguridad**

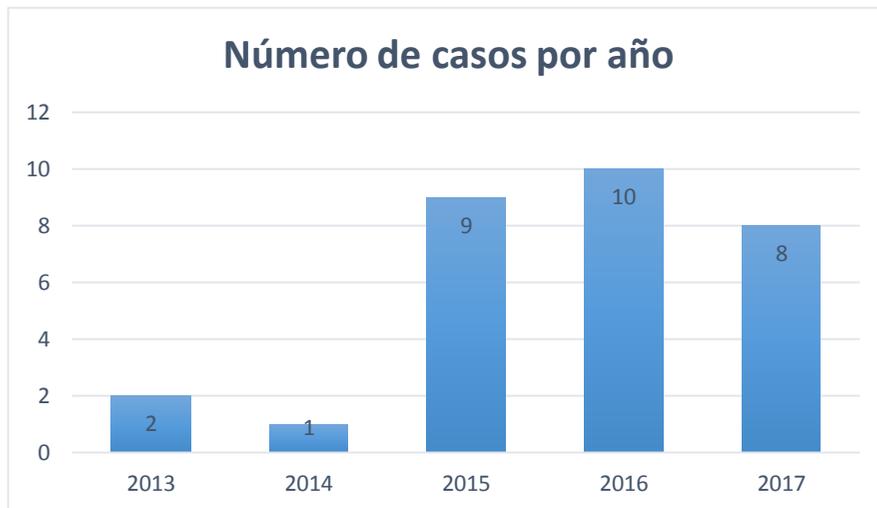
El diseño de la investigación se basa en la revisión de material biológico conservado de inocuo riesgo de transmisión de enfermedades infectocontagiosas, toxinas o punzocortantes, por lo que fue un estudio con nulo riesgo para su realización.

## **10. Resultados**

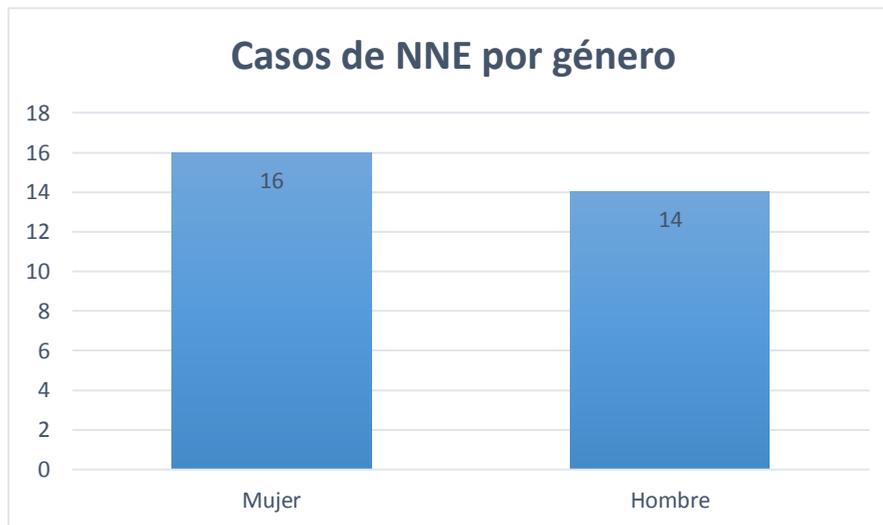
Se revisó el archivo clínico-patológico del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Juárez de México, realizando la búsqueda de reportes histopatológicos de neoplasia neuroendocrina del tracto gastrointestinal en el período que abarcó del año 2013 al 2017. Se revisaron un total de 48,192 reportes histopatológicos, 8861 del 2013, 8907 del 2014, 9307 del 2015, 9417 del 2016 y 11700 del 2017. Se encontraron 42 reportes histopatológicos de neoplasia neuroendocrina en el período antes mencionado, pertenecientes a 37 pacientes. No obstante en siete de ellos, se buscó en el archivo físico

y no se encontraron bloques de parafina y/o laminillas, por lo que el total de casos para el estudio histopatológico es de 30 casos.

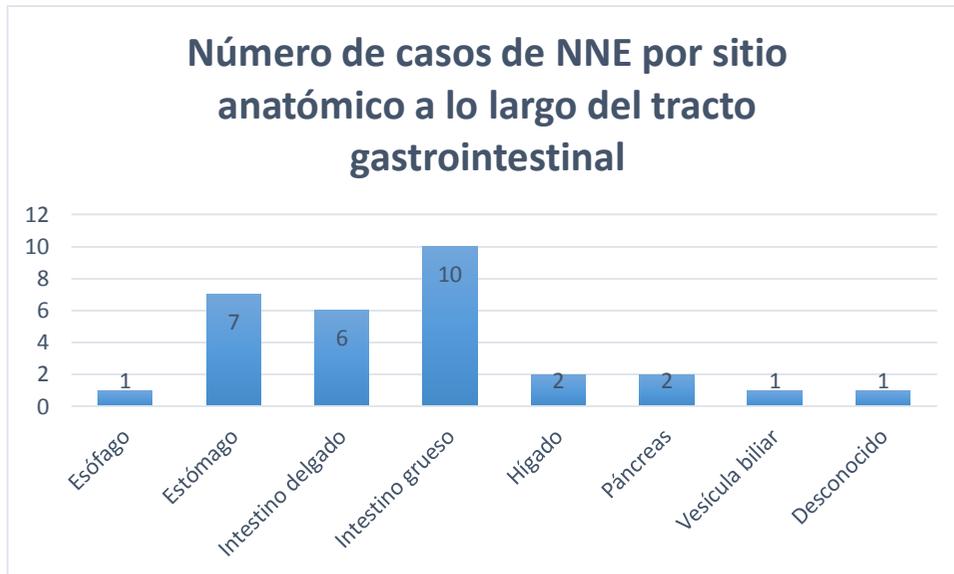
El número de casos por año fue de 2 en 2013, 1 en 2014, 9 en 2015, 10 en 2016 y 8 en 2017.



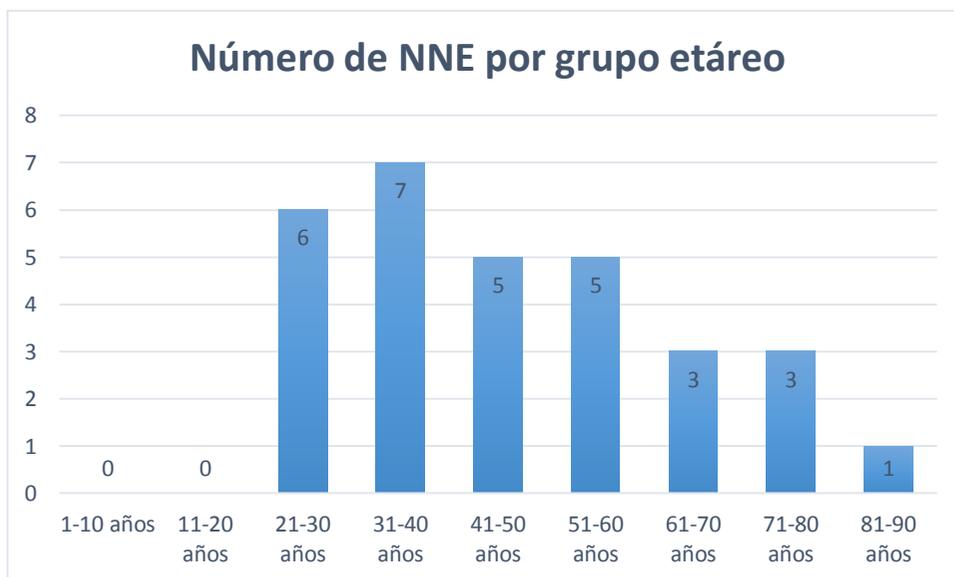
En cuanto a relación de casos por género, se encontraron 16 casos de mujeres y 14 casos en hombres.



En cuanto a la localización anatómica a lo largo del tracto gastrointestinal, se observó que el número de casos en esófago fue de 1, en estómago 7, en intestino delgado 6, en intestino grueso 10, en páncreas 2, en vesícula 1 y en hígado 2. En un caso el sitio anatómico específico dentro del tracto gastrointestinal no fue referido en los datos clínicos ni se encontró órgano residual en las muestra histopatológica.

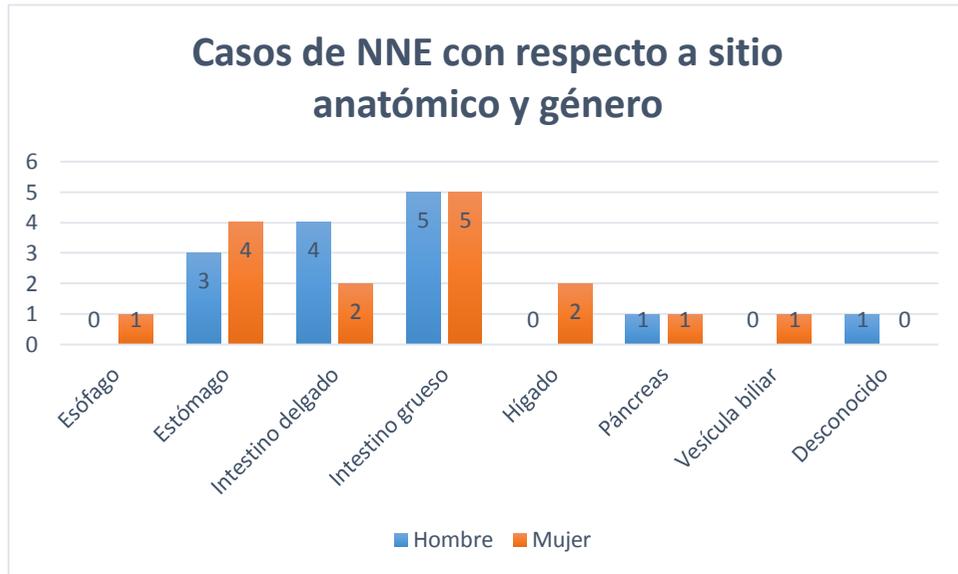


En cuanto a grupo etáreo, se observan mayor número de casos en la cuarta década de la vida con siete, seis en la tercera, y cinco en la quinta y sexta década de la vida, tres en la séptima y octava, y un solo caso entre los 81 y 90 años. La media de edad fue de 42.8 años con un rango de 27 a 83 años.

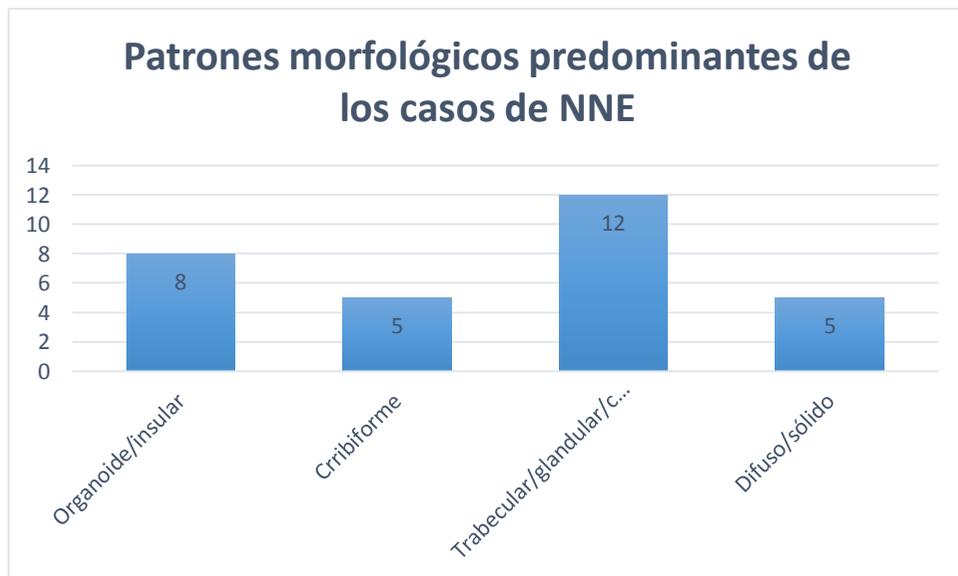


En cuanto a la relación de sitios anatómicos de NNE en cuanto a hombre y mujer, se observa que en esófago, el único caso se encontró en una mujer, de los siete casos en estómago, tres se encontraron en hombres. En cuanto a intestino delgado, cuatro se encontraron en hombre y 2 en mujeres. En intestino grueso ambos contaron con cinco casos. En el hígado los dos casos se encontraron en mujeres, en páncreas un caso fue

de hombre y otro de mujer, y la NNE de vesícula biliar se encontró en una mujer. El caso en el que se desconoce su localización anatómica pertenecen a un hombre.

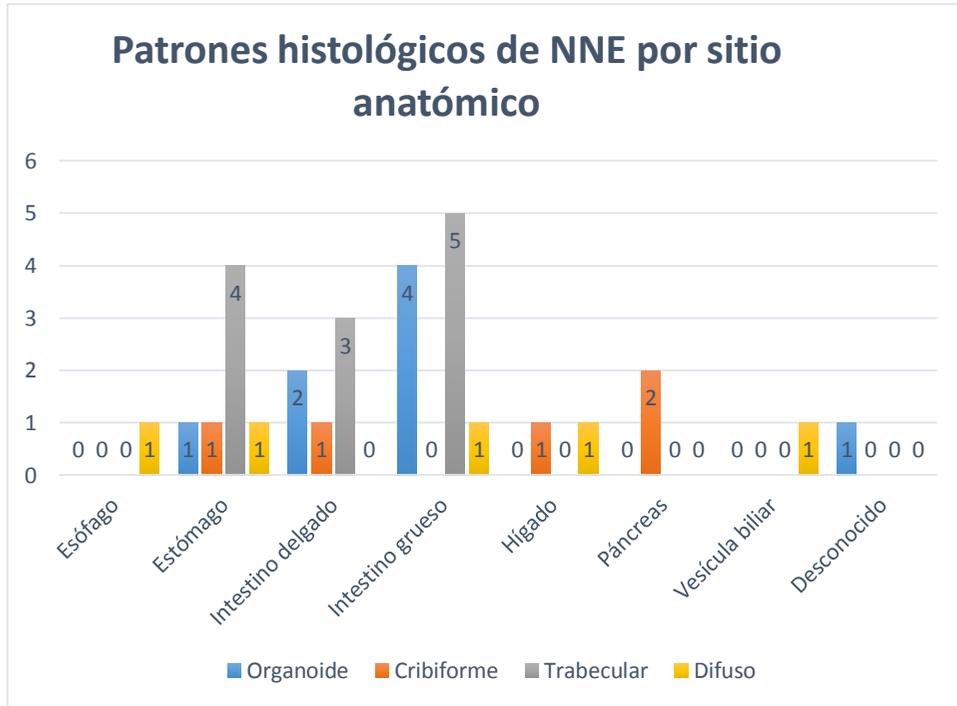


En cuanto al patrón histológico predominante por caso, el patrón organoide/insular se encontró 8 casos, el patrón cribiforme en 5 casos, el patrón trabecular/glandular/cordonal en 12 casos y el patrón difuso/sólido en 5 casos.

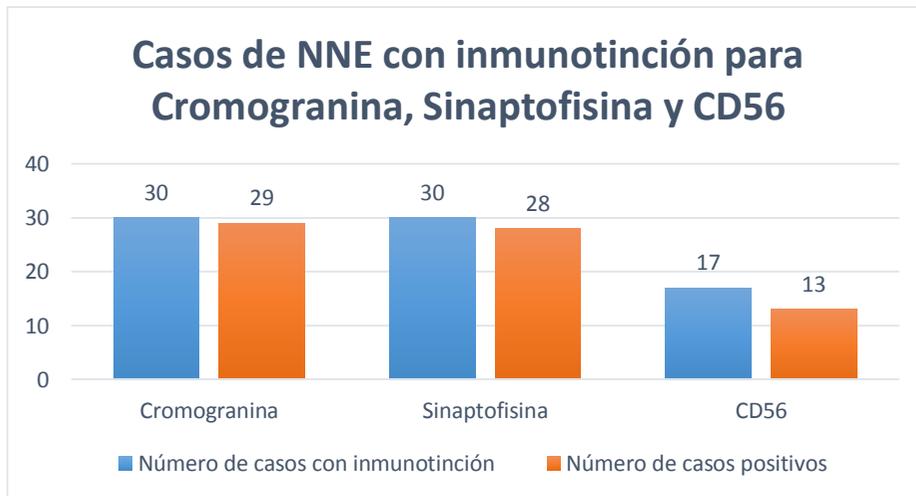


Con respecto a el patrón morfológico presentado por región anatómica, se observó una heterogeneidad de resultados. El único caso de esófago presentó un patrón difuso. En el estómago predominó el patrón trabecular/glandular/cordonal así como en el intestino delgado. En cuanto a intestino grueso predominó el patrón organoide/insular y

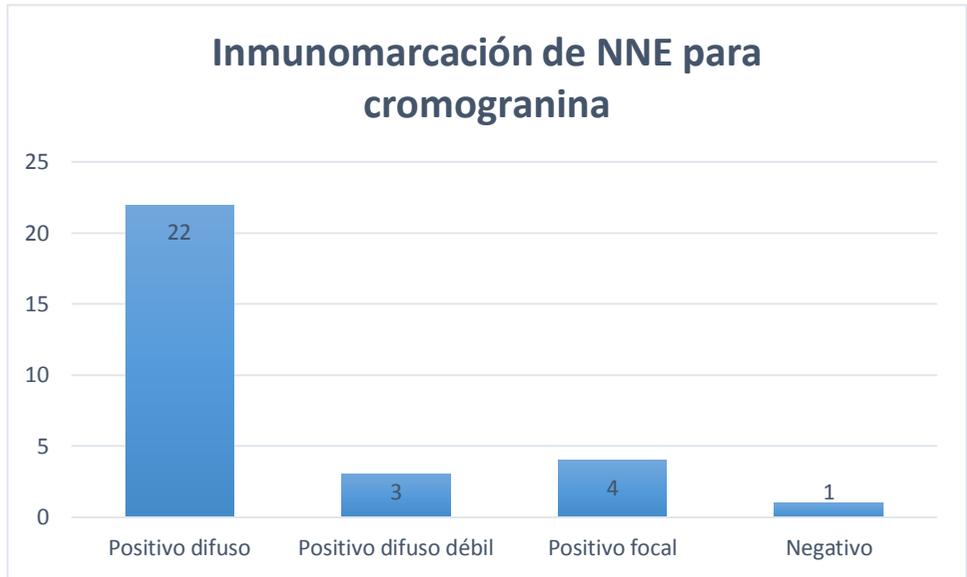
trabecular/glandular/cordonal. Los casos de hígado no mostraron algún patrón predominante. Los dos casos de páncreas mostraron un patrón cribiforme. El caso de vesícula mostró un patrón difuso. En cuanto al caso de sitio anatómico desconocido mostró un patrón organoide/insular.



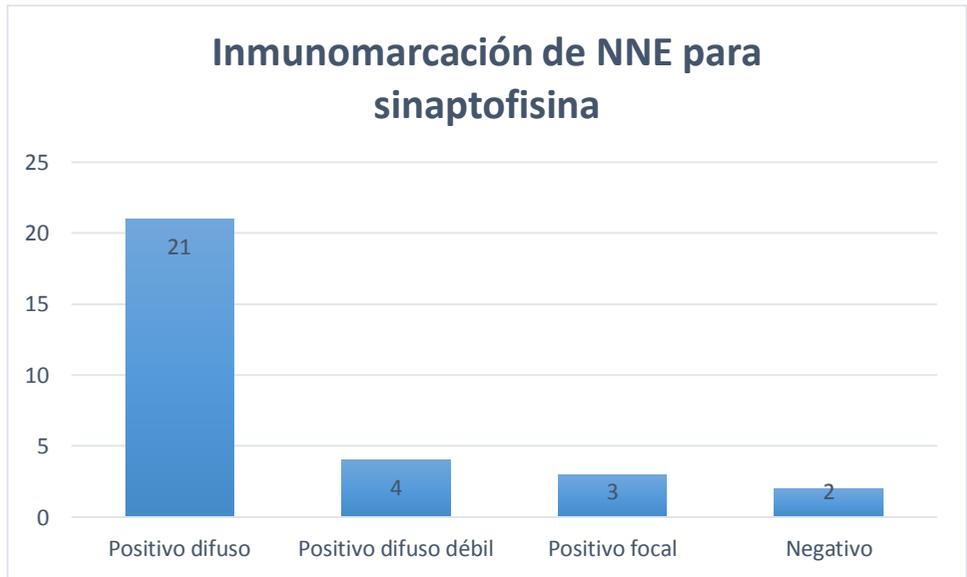
En cuanto al porcentaje de marcación de cada anticuerpo, para cromogranina fue de 96.67% (29/30 casos), para sinaptofisina de 93.33% (28/30 casos) y para CD56 de 76.47% (13/17 casos).



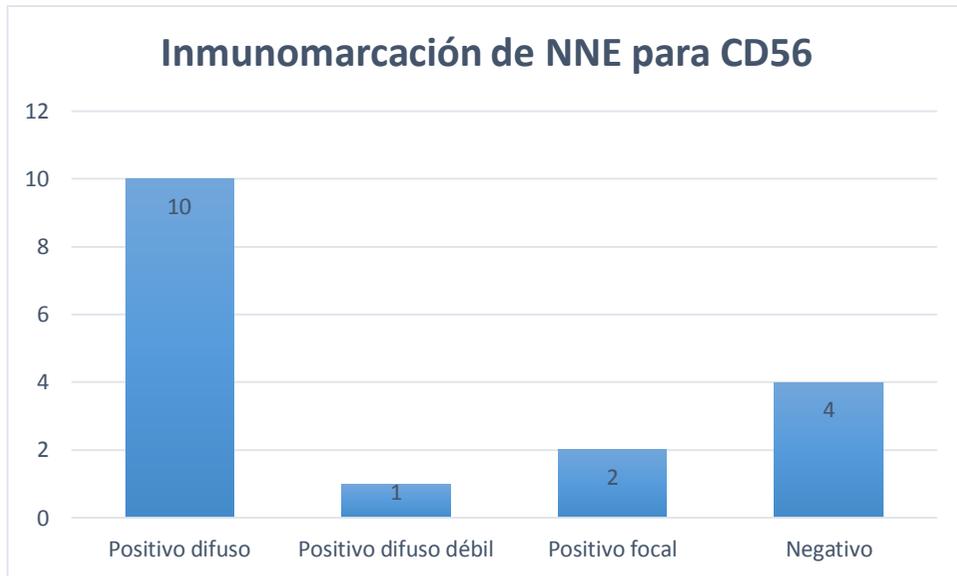
En cuanto al inmunomarcador para NNE cromogranina, de los 29 de 30 casos que tuvieron marcación positiva, en 22 de ellos la marcación fue positiva difusa, en tres positivo difuso débil y en cuatro casos positivo focal.



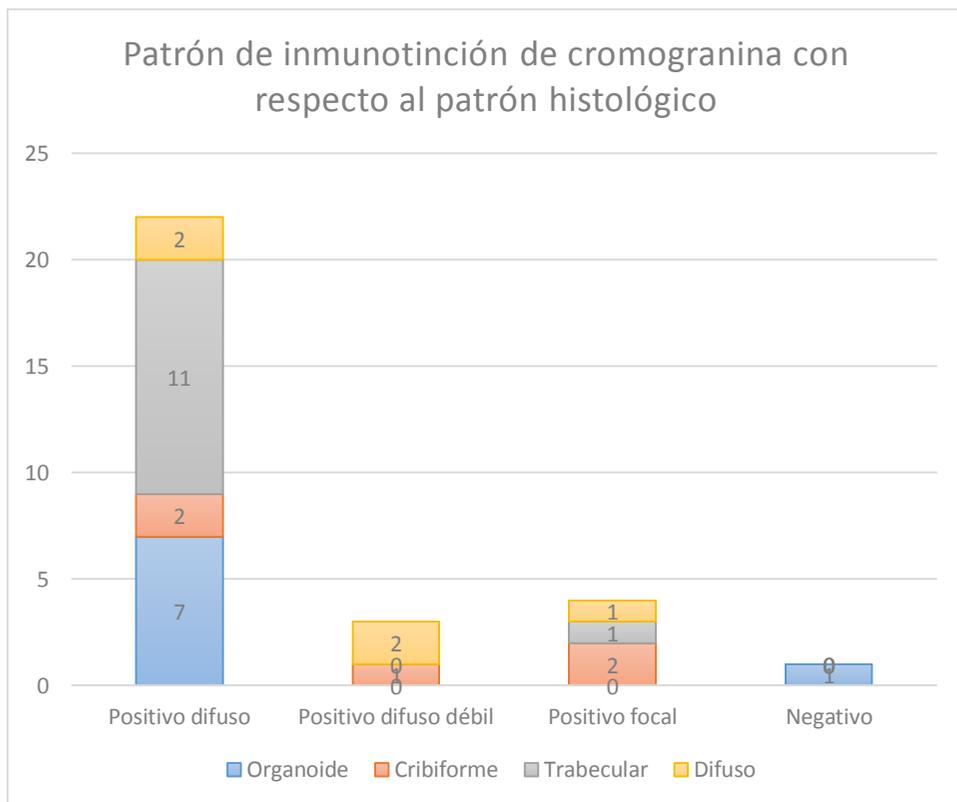
Con respecto al inmunomarcador sinaptofisina, de los 28 de los 30 casos que tuvieron inmunomarcación positiva, en 21 fueron positivos difuso, en cuatro positivo difuso débil, en tres positivo focal y en dos casos negativo.



La inmunomarcación de CD56, mostró que de los 13 de 17 casos que fueron positivos para el anticuerpo, en 10 hubo una marcación positivo difusa, en uno positivo difuso débil, en dos casos positivo focal y en 4 casos negativo.

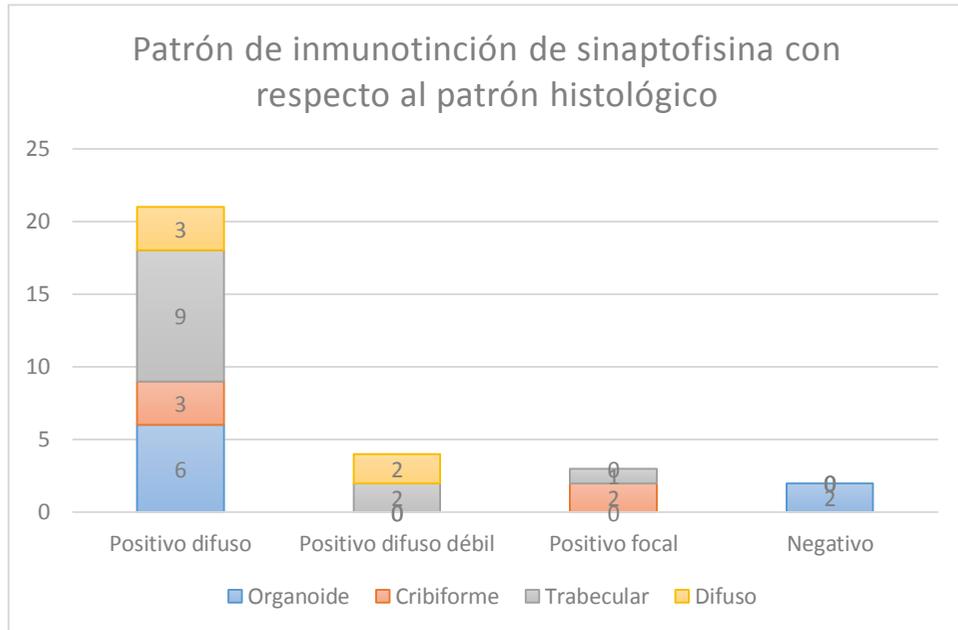


Con respecto al patrón de inmunomarcación y el patrón histológico de NNE para cromogranina, la mayoría de los casos tiene un patrón positivo difuso, y de estos el 50% corresponden al patrón trabecular/cordonal/glandular.

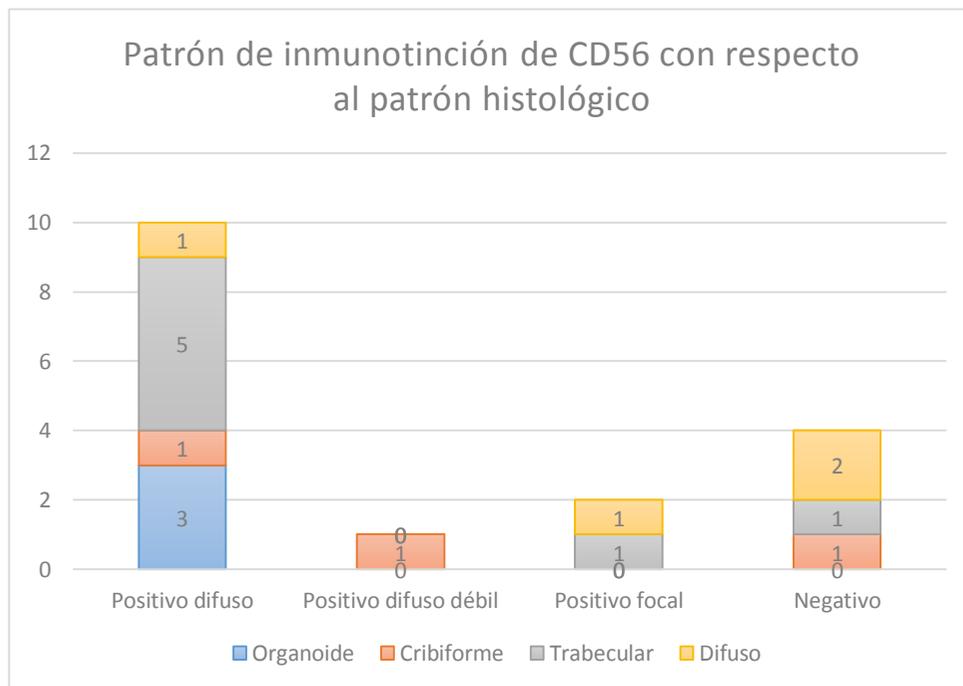


En cuanto al patrón de inmunomarcación de sinaptofisina, la mayoría de casos (21) tienen un patrón difuso positivo y cerca del 50% corresponden al patrón trabecular/cordonal/glandular. No hay casos de patrón organoide que tengan un patrón

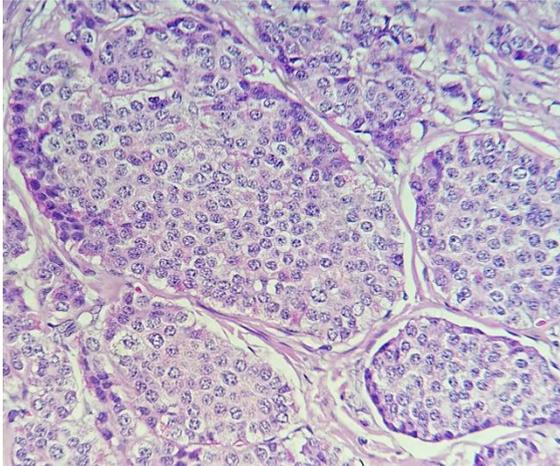
de inmunomarcación positivo focal ni positivo difuso débil. Los dos casos que tuvieron marcación negativa tenían patrón organoide.



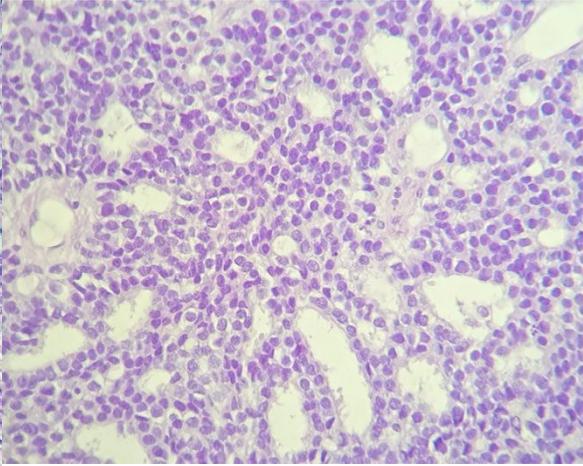
En cuanto a la inmunomarcación de CD56, el 50% de los casos con marcación positiva difusa tenían patrón trabecular/cordonal/glandular. No hubo casos con patrón organoide que marcaran positivo focal, positivo débil o que fueran negativos.



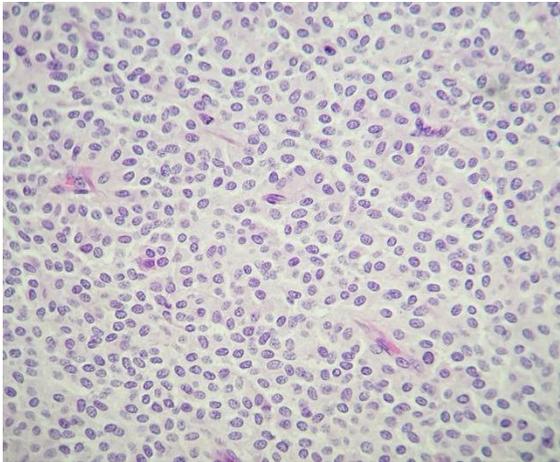
**Fotomicrografías de los patrones histológicos de las neoplasias neuroendocrinas con tinción de hematoxilina y eosina.**



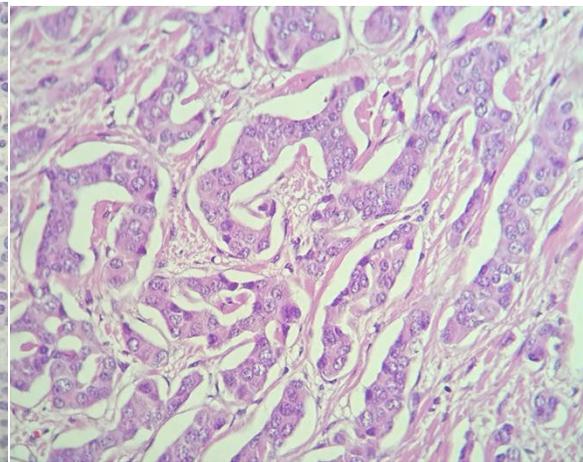
Patrón organoide/insular 400X.



Patrón cribiforme 400X

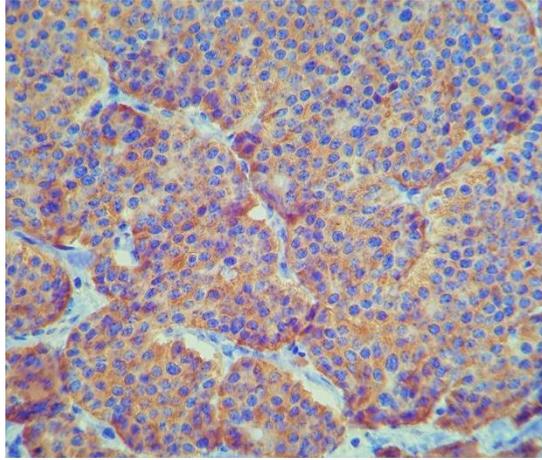


Patrón difuso 400X.

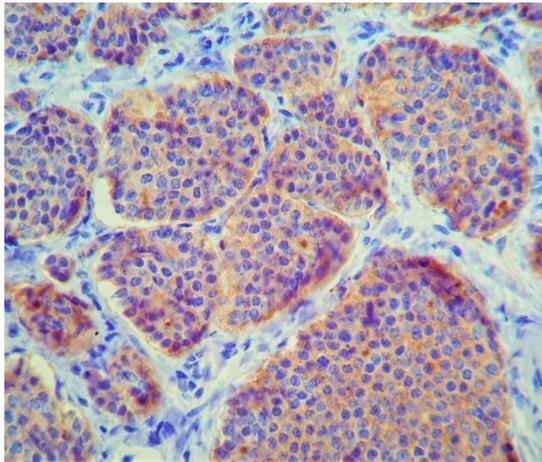


Patrón trabecular/cordonal/glandular 400X.

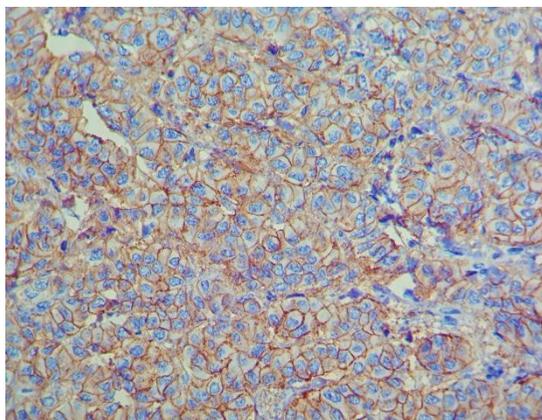
**Fotomicrografías de inmunotinción con sinaptofisina, cromogranina y CD56.**



Cromogranina 400X.



Sinaptofisina 400X.



CD56 400X.

## **11. Análisis y discusión de resultados.**

Los resultados encontrados con respecto a las neoplasias neuroendocrinas del tracto gastrointestinal muestran que el número de casos ha aumentado conforme al paso del tiempo. Prácticamente se cuadruplicaron los casos de 2013 a 2017. Considerando que el Hospital Juárez de México es un centro de atención de salud de tercer nivel y de referencia de los principales del país, tanto por número de pacientes atendidos al año como por la calidad en la atención, este puede ser un indicador de la tendencia que se observa en el país. La causa de este incremento podría ser un mayor acceso a los servicios de salud, a una mejor capacitación médica, a un uso más generalizado de los estudios de endoscopia con toma de biopsia como métodos diagnósticos e incluso a los medios digitales de información como Internet, que llevan a buscar atención más temprana ante síntomas gastrointestinales inespecíficos.

En cuanto a la ligera mayor prevalencia de casos en mujeres que en hombres, esto va acorde con la literatura. Aunque no es una diferencia muy marcada, y que el número de casos no es muy extenso, dicha relación podría atribuirse también a un efecto cultural. Normalmente se ha visto que dentro la población mexicana, las mujeres tienen una tendencia mayor a acudir al médico ante síntomas y signos menos graves que los hombres. Esto también podría ser adjudicado a que los principales métodos de cribado para detección de cáncer como mama y cervicouterino han tenido mayor difusión que las neoplasias malignas de próstata o testículo.

Analizando la ubicación a lo largo del tracto gastrointestinal y biliar observamos que tres cuartas partes de los casos se encuentran en intestino grueso, intestino delgado y estómago. El primero predomina con un tercio del total de casos, muchos de los cuales se encuentran en apéndice, como neoplasia de aspecto benigno y como hallazgo quirúrgico. La segunda localización en frecuencia es el intestino delgado, donde a pesar de su longitud mayor con respecto a otros segmentos del tracto gastrointestinal y biliar sólo da cuenta de 26.7% de los casos. La localización gástrica se encuentra en tercer lugar con 23.3%, una prevalencia alta comparada con la epidemiología en otros estudios. No obstante, el patrón en cuanto a localización anatómica es mucho más parecido al que se encuentra en los Estados Unidos, probablemente debido a la gran influencia locorregional, cultural y económica que guarda este país con México.

Con respecto a la edad de presentación, la media fue de 42.8 años y el mayor número de casos se encontraron en la cuarta década de la vida, lo que se asemeja mucho a la bibliografía. También hubo casos en la tercera edad pero mayor porcentaje se encontró en la etapa de adulto joven. Ningún caso se encontró en edad pediátrica, probablemente porque el Hospital Juárez de México

no concentra dicha población y es referida a otras instituciones de salud antes del diagnóstico. Además, está descrita su baja incidencia en la niñez.

Al desglosar la género versus sitio, no hay una diferencia acentuada en cuanto a localización anatómica y sexo. Tal vez debería señalarse que en las localizaciones donde se encontraron pocos casos como esófago, hígado o páncreas, hay predominio en mujeres, pero es aventurado asegurar una tendencia absoluta por el número escaso de casos.

El aspecto histopatológico mostró una heterogeneidad de los patrones morfológicos que pueden hacer las neoplasias neuroendocrinas. Prácticamente todas las variantes histológicas que hacen las células epiteliales neoplásicas pueden ser encontradas en los tumores neuroendocrinos. El patrón trabecular/glandular/cordonal fue el más frecuente con 40% de los casos, seguido del patrón clásico organoide/insular con 26.7%. menos número de casos presentan patrón cribiforme y difuso. Sería interesante conocer si hay alguna modificación de la conducta biológica con respecto al patrón histológico en seguimiento a largo plazo a estos pacientes, pero el alcance de este estudio está restringido más al aspecto morfológico. Se sabe que la histología difusa/sólida y cribiforme pueden tener un comportamiento más agresivo en otras neoplasias epiteliales, pero en cuestión de neoplasias neuroendocrinas, el índice mitótico y la localización juegan un papel más importante. Lamentablemente muchas de las muestras histopatológicas de los casos estudiados son biopsias, las cuales pueden no mostrar el patrón morfológico predominante por tratarse de una muestra escasa y periférica de la lesión neoplásica, y por tanto no ser representativa.

En cuanto a una comparación del patrón histológico con el sitio anatómico, se observó igualmente una heterogeneidad de resultados. El patrón predominante en intestino delgado, grueso y estómago fue el trabecular/cordonal/glandular. Igualmente en intestino grueso hay un gran porcentaje de casos con patrón clásico organoide/insular, atribuidos a los tumores de apéndice. La morfología “blanda”, carente de atipia y bien circunscrita se ha relacionado con un buen pronóstico. Sin embargo en páncreas, los escasos casos encontrado muestran un patrón cribiforme y el caso del esófago muestra un patrón difuso, más infiltrativo, lo que se correlaciona con una conducta más agresiva descrita en estas localizaciones.

Dentro de nuestro número no tan vasto de casos, la inmunomarcación con cromogranina y sinaptofisina se contó para las 30 muestras histopatológicas. Su porcentaje de inmunomarcación fue en ambas elevado, 96.7% y 93.3% mostrando ambas una sensibilidad elevada. En cuanto a su patrón de

inmunotinción, en la mayoría es positiva difusa. Esto se atribuye a que todas las células neoplásicas muestran la misma función neurosecretora y endocrina. Es menos habitual encontrar un patrón débil difuso o focal, pero de igual manera pueden presentarse. Esto es de analizarse con detalle ya que la mayoría de las neoplasias neuroendocrinas no son funcionantes, pero aún así el mayor número marca para los dos anticuerpos. Lo que puede significar que hay maquinaria celular suficiente para el transporte y secreción de vesículas en porcentaje variable en la población neoplásica, y que puede ser independiente de la síntesis del producto excretado.

Ambas, cromogranina y sinaptofisina, clásicamente han sido utilizadas para diagnosticar casos donde la morfología es dudosa o donde se requiere conocer el origen de neoplasias malignas de alto grado. Típicamente la cromogranina se ha descrito como la más específica y la sinaptofisina la más sensible. Aunque faltaron los casos controles, la inmunomarcación en los casos estudiados apoya mucho esta premisa, sin diferencia marcada uno del otro.

No obstante, de los casos con inmunomarcación con CD56, sólo 76.5% mostraron tinción positiva con alguna intensidad o focalidad. Claramente hay diferencia con respecto a los otros dos inmunomarcadores. La literatura menciona que CD56 es una proteína de adhesión de células epiteliales y algunas neoplasias neuronales. Tal vez la diferencia en el porcentaje de inmunoexpresión varíe de acuerdo al grado de diferenciación de la neoplasia y a su histología. Ya que se sabe, que cuanto más agresiva y de alto grado una neoplasia, la expresión de antígenos y consiguiente expresión de anticuerpos por inmunomarcación decrece. Se necesitan más recursos y más casos para ahondar en el potencial de usar CD56 en las neoplasias neuroendocrinas, sobretodo en cuanto a su utilidad y expresión de acuerdo al grado de diferenciación.

## **12. Conclusiones.**

Las neoplasias neuroendocrinas del tracto gastrointestinal y biliopancreático muestran aumento de prevalencia.

Las rasgos epidemiológicos como edad y sexo, y los datos anatomopatológicos como sitio anatómico y patrón histológico varían ligeramente respecto a los reportados en la literatura.

La sensibilidad de la cromogranina y sinaptofisina es elevada y constituye una herramienta diagnóstica importante en las neoplasias neuroendocrinas.

No hay una diferencia significativa en cuanto a la sensibilidad para la inmunomarcación entre la cromogranina y sinaptofisina en la población estudiada.

La sensibilidad de CD56 para neoplasias neuroendocrinas es mucho más baja en comparación a la cromogranina y sinaptofisina, pero los resultados deben contemplar la limitación del estudio en cuanto a número de casos y recursos.

No fue posible establecer una comparación de un algoritmo secuencial con uno simultáneo para el diagnóstico de neoplasias neuroendocrinas del tracto gastrointestinal, no obstante, con los resultados obtenidos, ante la sospecha de una neoplasia de este tipo, cromogranina o sinaptofisina pueden emplearse inicialmente de forma indistinta.

Un estudio posterior de mayor intervalo, con seguimiento clínico y con mayores recursos podría despejar dudas en cuanto a la contribución del patrón histológico y el patrón de inmunomarcación al pronóstico de las neoplasias neuroendocrinas del tubo digestivo en México.

### 13. Bibliografía

1. Niederle MB, Hackl M, Kaserer K, Niederle B. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours: the current incidence and staging based on the WHO and European Neuroendocrine Tumour Society classification: an analysis based on prospectively collected parameters. *Endocrine-Related Cancer* (2010) 17 909–918.
2. Hirabayashi K, Zamboni G, Nishi T, Tanaka A, Kajiwara H, Nakamura N. Histopathology of gastrointestinal neuroendocrine neoplasms. *Frontiers in Oncology*. 3 (2) 2013.
3. Uccella S, Sessa F, La Rosa S. Diagnostic Approach to Neuroendocrine Neoplasms of the Gastrointestinal Tract and Pancreas. *Turk Patoloji Derg*. 2015, 31:113-127).
4. Kaemmerer D, Posorski N, von Eggeling F, Ernst G, Hörsch D, Baum RP, Prasad V, Langer R, Esposito I, Klöppel G, Sehner S, Knösel T, Hommann M. The search for the primary tumor in metastasized gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm. *Clin exp Metast*.
5. Mocellin S, Nitti D. Gastrointestinal carcinoid: epidemiological and survival evidence from a large population-based study (n = 25 531). *Ann Oncol*. 2013 y 24(12):3040–3044.
6. Schimmack S, Svejda B, Lawrence B, Kidd M, Modlin IM. The diversity and commonalities of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Langenbecks Arch Surg*. 2011 y 396(3):273–298.
7. Solcia E, Vanoli A. Histogenesis and natural history of gut neuroendocrine tumors: present status. *Endocr Pathol*. 2014 y 25(2):165–170.
8. Rindi G, Arnold R, Bosman FT, Capella C, Klimstra DS, Klöppel G, Komminoth P, Solcia E. Nomenclature and classification of neuroendocrine neoplasms of the digestive system WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press y 13-4, 2010.
9. Yachida S, Vakiani E, White CM, et al. Small cell and large cell neuroendocrine carcinomas of the pancreas are genetically similar and distinct from well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors. *Am J Surg Pathol*. 2012 y 36(2):173–184.

10. Coriat R, Walter T, Terris B, Couvelard A, Ruzniewski P. Gastroenteropancreatic Well-Differentiated Grade 3 Neuroendocrine Tumors: Review and Position Statement. *Oncologist*. 2016 y 21(10):1191–1199.
11. la rosa s, Marando a, sessa F, Capella C. Mixed adenoneuroendocrine carcinomas (MaNeCs) of the gastrointestinal tract: an update. *Cancers*. 2012 y 4:11-30.
12. Bosman F. T., Organization W. H., Cancer I. A. F. R. O. (2010). WHO Classification of Tumours of the Digestive System. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
13. Sorbye H, Welin S, Langer SW, Vestermarck LW, Holt N, Osterlund P, et al Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): the NORDIC NEC study. *Ann Oncol*. 2013 Jan.
14. Schott M, Klöppel G, Raffel A, Saleh A, Knoefel WT, Scherbaum WA. Neuroendocrine Neoplasms of the Gastrointestinal Tract. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2011 y 108(18):305-312.
15. Scherübl H, Cadiot G, Jensen RT, Rösch T, Stölzel U, Klöppel G Neuroendocrine tumors of the stomach (gastric carcinoids) are on the rise: small tumors, small problems? *Endoscopy*. 2010 42(8):664-71.
16. Kim J, MD, -Mo Hong S, Gastrointestinal and Pancreatobiliary Neuroendocrine Tumors, *Arch Pathol Lab Med* 140, 2016.
17. Yong Jiang, Huawei Liu, Hu Long, Yingying Yang, Dianyng Liao, Xiuhui Zhang Goblet cell carcinoid of the appendix: a clinicopathological and immunohistochemical study of 26 cases from southwest china. *Int J Surg Pathol*. 2010 Dec y 18(6):488-92.
18. Deschamps L, Couvelard A. Endocrine tumors of the appendix: a pathologic review. *Arch Pathol Lab Med*. 2010 y 134(6):871–875.
19. Lee SH, Kim BC, Chang HJ, et al. Rectal neuroendocrine and L-cell tumors: diagnostic dilemma and therapeutic strategy. *Am J Surg Pathol*. 2013 y 37(7):1044–1052.
20. Singhi AD, Chu LC, Tatsas AD, et al. Cystic pancreatic neuroendocrine tumors: a clinicopathologic study. *Am J Surg Pathol*. 2012 y 36(11):1666–1673.

21. Shi C, Klimstra DS. Pancreatic neuroendocrine tumors: pathologic and molecular characteristics. *Semin Diagn Pathol*. 2014 y 31(6):498–511.
22. Tang LH, Basturk O, Sue JJ, Klimstra DS. A Practical Approach to the Classification of WHO Grade 3 (G3) Well-differentiated Neuroendocrine Tumor (WD-NET) and Poorly Differentiated Neuroendocrine Carcinoma (PD-NEC) of the Pancreas. *Am J Surg Pathol*. 2016 y 4.
23. Rindi G, Petrone G, Inzani F. The 2010 WHO classification of digestive neuroendocrine neoplasms: a critical appraisal four years after its introduction. *Endocr Pathol*. 2014 y 25:186-92.
24. Nassar H, Albores-Saavedra J, Klimstra DS. High-grade neuroendocrine carcinoma of the ampulla of Vater: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 14 cases. *Am J Surg Pathol*. 2005 May y 29(5):588-94.
25. Reid MD, Bagci P, Ohike N, et al. Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies. *Mod Pathol*. 2014 y 28(5):686–694.
26. Vélayoudom-Céphise FL, Duvillard P, Foucan L, Hadoux J, Chougnet CN, Leboulleux S, Malka D, Guigay J, Goere D, Debaere T, Caramella C, Schlumberger M, Planchard D, Elias D, Ducreux M, Scoazec JY, Baudin E. Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous.
27. Reid MD, Balci S, Saka B, Adsay NV. Neuroendocrine tumors of the pancreas: Current concepts and controversies. *Endocr Pathol*. 2014 y 25:65-79.
28. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C., editors. (eds.). (2009). *UICC: TNM Classification of Malignant Tumours*. Oxford: Wiley-Blackwell.
29. Rindi G, Klöppel G, Couvelard A, Komminoth P, Körner M, et al. TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch*. 2007 Oct y 451(4):757-62.
30. Klimstra DS, Modlin IR, Coppola D, Lloyd RV, Suster S. The pathologic classification of neuroendocrine tumors: a review of nomenclature, grading, and staging systems. *Pancreas*. 2010 y 39:707-12.
31. Klimstra DS, Modlin IR, Adsay NV, et al. Pathology reporting of neuroendocrine tumors: application of the Delphi consensus process to the development of a minimum pathology data set. *Am J Surg Pathol*. 2010 y 300–313, 34(3):.

32. Gattenlöhner S, Stühmer T, Leich E, et al. Specific detection of CD56 (NCAM) isoforms for the identification of aggressive malignant neoplasms with progressive development. *Am J Pathol.* 2009 y 174(4):1160–1171.
33. Vinik AI, Silva MP, Woltering EA, Go VL, Warner R, Caplin M. Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas.* 2009 y 38:876---89.
34. Modlin IM, Gustafsson BI, Moss SF, Pavel M, Tsolakis AV, Kidd M Chromogranin A--biological function and clinical utility in neuro endocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol.* 2010 Sep y 17(9):2427-43.
35. neuroendocrine, Helle KB. Chromogranins A and B and secretogranin II as prohormones for regulatory peptides from the diffuse.
36. Díaz Perez, Corras Freixes, Cromogranina A y tumores neuroendocrinos, *Endocrinología y Nutricion*, 60, 7, 2013.
37. Ghia JE, Crenner F, Rohr S, Meyer C, Metz-Boutigue MH, Aunis D, et al. A role for chromogranin A (4-16), a vasostatin-derived peptide, on human colonic motility. An in vitro study. *Regul Pept.* 2004 y 121:31---9.
38. Ghia JE, Crenner F, Rohr S, Meyer C, Metz-Boutigue MH, Aunis D, et al. A role for chromogranin A (4-16), a vasostatin-derived peptide, on human colonic motility. An in vitro study. *Regul Pept.* 2004 y 121:31---9.
39. Shooshtarizadeh P, Zhang D, Chich JF, Gasnier C, Schneider F, Haïkel Y, et al. The antimicrobial peptides derived from hromogranin/secretogranin family, new actors of innate immunity. *Regul Pept.* 2010 y 165:102---10.
40. 2011, Louthan O. Chromogranin A in physiology and oncology. *Folia Biol (Praha).* y 57:173---81.
41. Modlin IM, Gustafsson BI, Moss SF, et al. Chromogranin A – biological function and clinical utility in neuro endocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010 y 17:2427–2443.
42. Kloppel G, Couvelard A, Perren A, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: towards a standardized approach to the diagnosis of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors and their prognostic stratification. N.
43. Wang YH, Yang QC, Lin Y, Xue L, Chen MH, Chen J. Chromogranin A as a marker for diagnosis, treatment, and survival in patients with

gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm. *Medicine (Baltimore)*. 2014 y 93(27):e247.

44. Stojisic Z, Brasanac D, Bilanovic D, Mitrovic O, Stevanovic R, Boricic I *Med Oncol*. 2010 Dec y 27(4):1144-8.

45. Mjølnes, P., Sagatun, L., Nordrum, I. S., & Waldum, H. L. (2017). Neuron-Specific Enolase as an Immunohistochemical Marker Is Better Than Its Reputation. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 65(12), 687–703.

46. Gould, Wiedenmann et. Al. Synaptophysin Expression in Neuroendocrine Neoplasms as Determined by Immunocytochemistry *Am J Path*, 1986