

PAT-3824-21-21-1



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**  
**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**



**TÍTULO**

**FACTORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS PRONÓSTICOS EN TUMORES  
NEUROENDOCRINOS BIEN DIFERENCIADOS METASTÁSICOS EN HÍGADO**

**PRESENTA:**

**DRA. ALINA VÉLEZ VALLE**

**MÉDICO RESIDENTE DE LA ESPECIALIDAD DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO ESPECIALISTA EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**DR. ARMANDO GAMBOA DOMÍNGUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS**

**CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2021**



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.

PAT-3824-21-21-1



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**



**DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

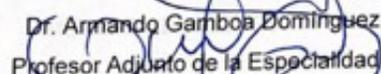
**FACTORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS PRONÓSTICOS EN TUMORES  
NEUROENDOCRINOS BIEN DIFERENCIADOS METASTÁSICOS EN HÍGADO**

  
**TESISTA**

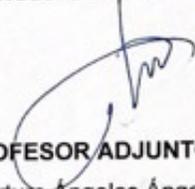
Dra. Alina Vélez Valle

Médico residente de 3er año de Anatomía Patológica  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
Secretaría de Salud

**DIRECTOR DE TESIS**

  
Dr. Armando Gamboa Domínguez  
Profesor Adjunto de la Especialidad  
Departamento de Patología

**PROFESOR ADJUNTO**

  
Dr. Arturo Ángeles Ángeles  
Profesor Titular Especialidad  
Anatomía Patológica

**DIRECTOR DE ENSEÑANZA**

  
Dr. Sergio Ponce de León  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE 2021**



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

CIUDAD DE MÉXICO, A 04 DE AGOSTO DE 2021  
No. OFICIO MCONTROL-1171/2021  
REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627

DR. ARMANDO GAMBOA DOMINGUEZ  
INVESTIGADOR PRINCIPAL  
DEPTO. DE PATOLOGÍA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN, SALVADOR ZUBIRÁN  
VASCO DE QUIROGA No. 15, COL. SECCIÓN XVI,  
CP 14080, DEL. TLALPAN, CDMX  
P R E S E N T E

Por este medio, nos permitimos informarle que el *Comité de Investigación*, así como el *Comité de Ética en Investigación* del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, han revisado y aprobado el Protocolo de Investigación Clínica, titulado:

**"Factores clínico-patológicos pronósticos en tumores neuroendocrinos bien diferenciados metastásicos en hígado"**  
Versión agosto 2021  
REF. 3824

La vigencia de la aprobación termina el día 04 de agosto de 2022. Si la duración del estudio es mayor tendrá que solicitar la re-aprobación anual del mismo, informando sobre los avances y resultados parciales de su investigación e incluyendo todos los datos sobresalientes y conclusiones.

POR FAVOR CUANDO TERMINE EL PROTOCOLO DEBERÁ ENVIAR CARTA DE AVISO DE CIERRE O TERMINACIÓN.

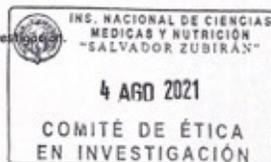
Sin más por el momento, quedamos de Usted.

DR. CARLOS A. AGUILAR SALINAS  
PRESIDENTE  
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

ATENTAMENTE,

DR. SERGIO HERNÁNDEZ JIMÉNEZ  
SECRETARIO  
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN

c.c.p. Dr. Gerardo Gamba Ayala, Director de Investigación  
CAAS/SHJ/mas



Avenida Vasco de Quiroga No. 15, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Alcaldía Tlalpan  
C.P. 14080 Ciudad de México Tel. 55 54 87 09 00 www.incmnsz.mx



## ÍNDICE DE CONTENIDO

Contenido	Página
Datos de identificación.....	5
Lista de abreviaturas.....	6
1. Resumen.....	7
2. Introducción.....	9
3. Marco Teórico.....	10
4. Justificación.....	33
5. Planteamiento del Problema.....	35
6. Pregunta de investigación.....	36
7. Objetivos.....	37
8. Metodología.....	38
8.1 Diseño del estudio y lugar de trabajo.....	38
8.2 Selección y tamaño de la muestra.....	38
8.3 Criterios de selección.....	39
8.4 Variables.....	40
8.5 Operacionalización de variables.....	41
8.6 Procedimientos.....	43
8.7 Análisis estadístico.....	44
8.8 Aspectos éticos.....	45
8.9 Recursos, financiamiento y factibilidad.....	47
9. Resultados.....	49
10. Discusión.....	72
11. Conclusiones.....	77
12. Referencias bibliográficas.....	78
13. Bibliografía.....	84
14. Anexos	
Anexo 1. Cronograma de actividades.....	85
Anexo 2. Hoja de recolección de datos.....	86
Anexo 3. Ejemplo de gradificación por imagen digital Ki-67.....	88

## **DATOS DE IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES**

### **Dr. Armando Gamboa Domínguez**

Médico especialista en Anatomía Patológica, Jefe del departamento de Patología

Adscripción: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Número de empleado: 7094

Dirección: Vasco de Quiroga 15, Belisario Domínguez Secc 16, Tlalpan, 14080

Ciudad de México, CDMX

Teléfono: 55 54 87 09 00 ext. 7128

Teléfono celular: 55 39 66 69 85

Correo electrónico: armando.gamboad@incmnsz.mx

### **TESISTA**

#### **Dra. Alina Vélez Valle**

Médico residente del curso de Especialización en Anatomía Patológica

Adscripción: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Número de empleado: 14953

Dirección: Vasco de Quiroga 15, Belisario Domínguez Secc 16, Tlalpan, 14080

Ciudad de México, CDMX

Teléfono: 55 54 87 09 00 ext. 2184

Teléfono celular: 33 10 21 13 75

Correo electrónico: alina.velez.valle@gmail.com

## LISTA DE ABREVIATURAS

TNE	Tumores neuroendocrinos
NNEs	Neoplasias neuroendocrinas
TNE-GEP	Tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos
TNEbd	Tumores neuroendocrinos bien diferenciados
CNE	Carcinoma neuroendocrino
MINEN	Tumor mixto neuroendocrino – no neuroendocrino
G1	Grado 1
G2	Grado 2
G3	Grado 3
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
OMS	Organización Mundial de la Salud
ENETS	The European Neuroendocrine Tumour Society
AJCC	The American Joint Committee of Cancer
5-HIAA	Ácido 5-Hidroxiindol acético
H&E	Tinción de hematoxilina y eosina
NEM1	Neoplasia Endocrina Múltiple tipo 1
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
AS	Análogos de Somatostatina

# “FACTORES CLÍNICO-PATOLÓGICOS PRONÓSTICOS EN TUMORES NEUROENDOCRINOS BIEN DIFERENCIADOS METASTÁSICOS EN HÍGADO”

## 1 RESUMEN

**Introducción:** Los tumores neuroendocrinos son neoplasias malignas con grados variables de agresividad dependientes de variables morfológicas, serológicas y clínicas sin una clara caracterización en nuestro medio. Se originan en diversos sitios donde residen las células endocrinas y poseen capacidad de metastatizar a diversos sitios, principalmente el hígado.

**Pregunta de investigación:** ¿Cuáles son los hallazgos clínico-patológicos que influyen en el pronóstico de pacientes con metástasis hepáticas de tumores neuroendocrinos bien diferenciados (TNEbd)?

**Objetivo:** Identificar factores clínico-patológicos con influencia pronóstica en TNEbd con metástasis en hígado.

**Metodología:** Estudio retrospectivo, longitudinal y descriptivo de los casos con diagnóstico morfológico de tumor neuroendocrino y de carcinoma neuroendocrino metastásico en hígado del año 2000 al 2020. Se re-revisaron las laminillas para identificar el patrón de crecimiento, número de mitosis en 10 campos 40x, necrosis, atipia/pleomorfismo nuclear en la metástasis y cuando se encontraba disponible en el sitio primario. La proliferación celular fue evaluada con inmunohistoquímica para Ki-67 para establecer el grado. Cuando se encontraron disponibles se confirmaron los marcadores genéricos de neoplasias neuroendocrinas. Se revisaron los expedientes clínicos para identificar las características demográficas, presentación clínica, tratamientos, evolución y desenlaces. Se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión. Análisis univariado y multivariado para conocer asociaciones y curvas de supervivencia de Kaplan-Meier con prueba de Log Rank.

**Resultados:** Se identificaron 71 pacientes con TNE metastásicos en hígado que 62 contaron con material evaluable. Se eliminaron 9 pacientes (otro tipo histológico, sin metástasis hepáticas y ausencia de información clínica). Al final, se contaron 53 pacientes, con mediana de edad de 54 años (22-81 años), 53% fueron varones,

Los TNEbd metastásicos al hígado fueron grado 1 (53%), grado 2 (28%), grado 3 (9%) y 9% correspondieron a carcinomas neuroendocrinos. Los sitios primarios de las metástasis se ubicaron en el páncreas (38%), intestino delgado (26%) y en 25% no se identificó sitio primario. La afección hepática fue difusa en 86% de los pacientes y la mediana de supervivencia global fue de 47 meses (60% de muerte por enfermedad). El patrón de crecimiento sólido, alto grado nuclear, apoptosis y mitosis fueron relevantes para la agresividad. El análisis univariado y multivariado identificó el grado histológico en las metástasis ( $p < 0.000$ ), la presencia de 3 o 4 características morfológicas de malignidad ( $p < 0.000$ ), metástasis al diagnóstico ( $p < 0.003$ ), recibir algún tipo de tratamiento ( $p < 0.000$ ) y resección del tumor primario ( $p < 0.000$ ) como significativamente asociados con la supervivencia.

**Conclusiones:** Establecer el grado morfológico e inmunohistoquímico con Ki-67 de los TNEbd metastásicos en hígado, se asocia con la evolución clínica. Se reconoce peor evolución en metástasis con presencia de necrosis tumoral, patrón de crecimiento sólido e incapacidad para reseccionar el tumor primario.

## 2 INTRODUCCIÓN

Las neoplasias neuroendocrinas (NNEs) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias que se originan de células neuroendocrinas, con mayor frecuencia en el tracto gastrointestinal y respiratorio, que pueden o no ser funcionales. Su incidencia ha ido en aumento en los últimos años. La mayoría son bien diferenciados y se llaman tumores neuroendocrinos bien diferenciados (TNEbd). Este subgrupo se caracteriza por poca proliferación y usualmente tienen pronóstico bueno a moderado. Los que son poco diferenciados, son de alto grado y se llaman carcinomas neuroendocrinos (CNE), con un peor pronóstico.

Sin embargo, se ha visto que a pesar de su bajo grado y ser bien diferenciados, tienen la capacidad de metastatizar, siendo el hígado el sitio principal de metástasis, lo cual le confiere una disminución en su sobrevida. Arriba del 20% de los pacientes presentan metástasis en el momento del diagnóstico. A pesar de los avances en las técnicas de imagen, aproximadamente el 5% de las metástasis tienen un primario desconocido. Dada la gran variabilidad en su comportamiento, su tratamiento se vuelve un reto. Usualmente solo se daba grado histológico al tumor primario, pero se ha visto que en la metástasis suele presentarse el mismo grado o mayor. El determinar el grado histológico y otras variables como el índice de proliferación medido con Ki-67 de la metástasis hepática, presencia de necrosis, apoptosis, patrón de crecimiento sólido y alto grado nuclear podrá proveer información del comportamiento que tendrá dicho tumor y valor pronóstico. La correlación entre el grado histológico de la metástasis y la sobrevida no se ha realizado en población mexicana, lo que, junto con la identificación de características morfológicas, clínicas y de tratamiento indicativas de peor pronóstico, son los objetivos del presente estudio.

### **3 MARCO TEÓRICO**

#### **1.1 Tumores neuroendocrinos**

Los tumores neuroendocrinos (TNE) son un grupo heterogéneo de lesiones neoplásicas que independientemente del sitio primario de origen, comparten características de diferenciación neural y endocrina como la presencia de gránulos neurosecretores, vesículas tipo sinápticas y la capacidad de producir aminas o péptidos hormonales (1).

Estas neoplasias se presentan principalmente en el sistema broncopulmonar (22%) y gastrointestinal -incluyendo páncreas- (62%) o llamado gastroenteropancreático (GEP) (2), las cuales expresan marcadores generales de diferenciación neuroendocrina, sustancias bioactivas órgano-específico y factores de transcripción específicos del tejido de origen. Comprenden un gran espectro de neoplasias definidas por una morfología convencional que va desde bien diferenciados con crecimiento relativamente lento, pero con potencial maligno, hasta carcinomas poco diferenciados altamente agresivos.

##### **1.1.1 Localización y epidemiología**

Aunque la diferenciación neuroendocrina puede darse en diversos carcinomas como el de próstata, vejiga, mama, cavidad nasal, los TNE se consideran una entidad separada por su origen en células neuroendocrinas del gran sistema endocrino que incluye la hipófisis, paratiroides, tiroides, suprarrenal, páncreas, células endocrinas del tracto gastrointestinal, sistema respiratorio, sistema nervioso, mama y sistema urogenital. A pesar de que la mayoría se encuentran en el sistema respiratorio y digestivo, los órganos antes mencionados pueden dar lugar a estos tumores, por ejemplo: los adenomas de paratiroides, carcinoma medular de tiroides, feocromocitoma en la glándula suprarrenal, paraganglioma, adenoma de hipófisis; otros tumores neuroendocrinos poco frecuentes también incluyen carcinoma de células de Merkel y el adenoma neuroendocrino del oído medio (NAME). Recientemente se ha propuesto un sistema de clasificación para todos los sitios, donde aún el broncopulmonar no se

ha unificado con el gastrointestinal. Otros sitios primarios que podemos encontrar en menor frecuencia incluyen tráquea, esófago, ovarios, testículos, próstata, riñón y mama (1).

En cuanto al tracto gastrointestinal, los sitios primarios más comunes son el recto y el intestino delgado en EUA, ya no es el apéndice como a menudo se cita. Más del 20% de pacientes se presentan con metástasis al momento del diagnóstico, más comúnmente en hígado. Sin embargo, hay sitios con clara distinción en cuanto a su potencial metastásico como los TNE del apéndice y el estómago, que generalmente se diagnostican confinados al sitio primario, mientras que los pancreáticos y de intestino delgado se diagnostican en contexto de metástasis. A pesar del desarrollo de las técnicas de imagen y un exhaustivo trabajo clínico, en un 5 al 11% de tumores neuroendocrinos no es posible encontrar el sitio primario. En esta situación, la biopsia de hígado se realiza con frecuencia para confirmar el diagnóstico, seguida de mayor investigación para encontrar el probable sitio primario, siendo muchas veces la única muestra de tejido que tenemos al alcance para evaluación.

Según los datos epidemiológicos del registro nacional de cáncer en Europa Oriental y el US National Cancer Institute Surveillance, la incidencia de todos los TNE en todos los sitios primarios ha incrementado 3.6- 4.8 veces en las 4 décadas previas en el mundo occidental, que varía de 2.5 a 5 casos por 100 000 habitantes. El mayor incremento de incidencia se registró en los TNE gástricos y rectales y el menor aumento en intestino delgado y ciego. La incidencia anual estimada global de TNE gastrointestinales es entre 3.6 y 3.9 por 100 000 habitantes. Estudios han identificado diferencias raciales y de género. En población asiática, los TNE son menos frecuentes en intestino delgado, mientras que TNE gástricos y rectales son más prevalentes(1).

La serie más grande de TNE en población norteamericana con un total de 35 618 de TNE -tanto GEP como de otras localizaciones como pulmón y timo- en

el periodo de 1973 a 2004 se observó un incremento en la incidencia anual, donde al inicio fue de 1,09/100 000 habitantes y en 2004 de 5.25/100 000. El 52% correspondió a mujeres y el 48% a hombres, con edad media al diagnóstico de 63 años. 40% se presentaron con enfermedad localizada, 19% con enfermedad regional y 21% con enfermedad a distancia. De acuerdo con su origen embriológico, la distribución fue la siguiente: intestino proximal (estómago, páncreas, duodeno) 41%, intestino medio (yeyuno, íleon, apéndice, ciego) 26%, intestino distal (colon y recto) 13% (4).

En Francia, se evaluó la incidencia de los TNE gastroenteropancreáticos (GEP) en dos periodos, de 1976 a 1987 la relación hombre/mujer mostró predominancia en los hombres, la cual claramente disminuyó durante el siguiente periodo 1988 a 1999 debido a un gran incremento en los casos en mujeres. En España, en el Registro Nacional de Cáncer de los TNE GEP, mostró una distribución similar entre sexos en su población de estudio de 2001 a 2008 con 55% hombres y 45% mujeres. La mediana de edad al diagnóstico fue de 59 años. Al diagnóstico 36.4% tenían enfermedad localizada, 14.2% enfermedad regional y 44.2% enfermedad metastásica, donde un 5.3% no fue reportado (5). También se ha mencionado que existe una relación mujer: hombre de 2.5:1, pero no ha sido consistente en otros estudios realizados (2).

La epidemiología de las metástasis de los TNE es virtualmente desconocida. En un trabajo realizado en Suecia por Riihimäki y colaboradores, de un total de 7,334 pacientes con TNE del Registro Sueco de Cáncer y de los Registros Nacionales de Pacientes y Causas de Muerte se estudió la distribución de las metástasis encontrando que el hígado fue el sitio más común de metástasis (82% de los pacientes con metástasis) y el intestino delgado fue la fuente de metástasis más común. De todos los pacientes con TNE pulmonar, el 66% tenía metástasis hepáticas, mientras los que correspondían a adenocarcinoma de pulmón solo eran del 20%. El riesgo de metástasis fue mayor si el tumor primario se encontraba en el intestino delgado o tracto pancreatobiliar, mientras que fue menor si era de origen

rectal o apendicular. Los hombres tuvieron más metástasis a hueso que las mujeres. Los pacientes con TNE metastásico tuvieron peor pronóstico si el sitio primario era desconocido (11 meses, 9% de los pacientes con TNE) comparados con los que el primario sí es conocido (19 meses). En metástasis de TNE, se debe sospechar de intestino delgado como sitio primario, mientras que de pulmón se debe pensar si hay metástasis al sistema nervioso central de TNE (6).

En lo que concierne a nuestro país, Alvarado Cabrero y colaboradores realizaron una reclasificación de 127 casos de TNE GEP en el Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, donde 89% ocurrieron en el tracto gastrointestinal y 11% en el páncreas, los sitios más frecuentes del tracto gastrointestinal fueron de estómago (35%) y de intestino delgado (28%). El grado histológico de las neoplasias de tubo digestivo fueron: Grado 1 54%, grado 2 31%, grado 3 15%; y en páncreas: grado 1 43%, grado 2 36% y grado 3 21%. La sobreexpresión del Ki-67 se correlacionó con el grado tumoral (7).

En un estudio realizado en el Hospital Español de México, con un total de 193 casos de TNE, del 2016 a 2017, la localización más frecuente fue gástrica (41%), seguida de páncreas (14%) y colon (11.5%). Con mayor incidencia en hombres (58%) que en mujeres (42%) con una edad media de 51.6 años y 50.7 años respectivamente (8). En 2016, en un estudio retrospectivo de 10 años en el Centro Médico ABC se estudiaron 37 casos donde el 37% fueron hombres y 63% fueron mujeres con una edad media al diagnóstico de 59 años, con predominio de sitios primarios en páncreas (29.7%), pulmón (7%), estómago (4%) y sitio primario desconocido (4%), con enfermedad metastásica del 29.7%. (9). Más recientemente, otro estudio realizado en el INCMNSZ en 2019, solo se analizaron TNE funcionales, de los cuales se encontraron 126 casos, donde 81 fueron mujeres (64.3%) y 45 hombres (35.7%). La edad media al diagnóstico fue de 46.3 años. De todos ellos los más frecuentes fueron insulinomas (59.5%), seguidos de tumores causantes de síndrome carcinoide (12.7%), gastrinomas, ACTHomas, VIPomas, glucagonomas y PPomas. 24.6% se presentaron con metástasis al diagnóstico y

6.4% no fue posible identificar el sitio primario (10). Sin embargo, en la mayoría de estos estudios no se reportó evolución clínica, tratamiento o desenlace ni la histología de las metástasis.

En un trabajo publicado en 2013 realizado en el INCMNSZ, se estudiaron 172 casos con TNE de los cuales 55% fueron mujeres y 77% hombres, con una media de edad al diagnóstico de 51 años: de los cuales 67% fueron derivados del intestino proximal, 12% intestino medio, 8% intestino distal, 7% de sitio primario desconocido. El 60% tenía enfermedad localizada, 9% enfermedad locorregional, 31% enfermedad a distancia. Se concluyó que en nuestra población mexicana los factores clínicos son los que tienen mayor determinación en el pronóstico, mencionando que la cirugía es el único tratamiento curativo para los TNE-GEP, recomendándose la cirugía aún en presencia de metástasis hepáticas. Además de esto, se identificaron como factores pronósticos asociados significativamente con la supervivencia, el estadio clínico, la pérdida de peso, presentación con ictericia, estado funcional ECOG, y como ya se había mencionado la resección del tumor primario y la resección de las metástasis (11). Se ha reportado un caso de éxito en México donde el tratamiento consistió en trasplante hepático y resección del tumor primario, incluido en la serie de este trabajo (12).

### **1.1.2 Fisiopatología de los TNE**

Empero su comportamiento variable, hay ciertos puntos en común en cuanto a los mecanismos fisiopatológicos y aberraciones genéticas asociadas en los TNE en todos los sitios. Aunque poco se sabe de la patogénesis de los TNE, hay diversas vías moleculares claves que se ha demostrado que contribuyen a la formación tumoral, ya sea de forma indolente o más agresiva. Los TNE pancreáticos, gástricos, duodenales, tímicos y bronquiales se pueden hallar dentro del espectro de NEM 1; los pancreáticos pueden estar en el contexto de la enfermedad de Von Hippel Lindau o esclerosis tuberosa; los somatostatonomas se pueden diagnosticar en pacientes con Neurofibromatosis tipo 1. En el síndrome Pacak-Zhuang, las mutaciones en HIF2A llevan al desarrollo de somatostatonomas,

seguido de paragangliomas/feocromocitomas y policitemia. En la enfermedad de Mahvash causada por el receptor de glucagón P86S mutado, hay una incidencia aumentada TNE pancreáticos y en pacientes con la mutación MAFA (MIM 147630) se han encontrado múltiples insulinomas en el páncreas (1).

En los tumores neuroendocrinos de pulmón se han descubierto múltiples mutaciones entre las que se incluyen NEC, KIT, PTEN, SMO, SMAD4; en los carcinomas de células pequeñas se han encontrado en Rb1, VHL1, NRAS y JAK3. En tumores neuroendocrinos pancreáticos han encontrado mutaciones en genes de la vía de mTOR en 15% de los casos (13).

Sin embargo, estudios moleculares muestran una clara separación genómica entre TNEbd y CNE: los TNEbd llevan mutaciones de tumores bien diferenciados como MENIN, DAXX, ATRX. Mutaciones en TP53 y Rb1 parecen ser buenos marcadores para poca diferenciación y puede ayudar a diferenciar un CNE de un TNEbd G3, ya que estos últimos no muestran pérdida de la expresión de Rb1, acumulación nuclear de P53, falta de expresión de ISL1 o KRAS alterados como en un CNE. En diferentes órganos, la firma mutacional de CNE parece ser similar a la de los adenocarcinomas de la misma localización del tumor primario, más que tener una signatura neuroendocrina en común. Los CNE frecuentemente llevan mutaciones de adenocarcinomas como KRAS o BRAF además de las ya aludidas p53 y Rb1. Las mutaciones presentes en los CNE-GEP y los pulmonares difieren, por ejemplo, en los primeros podemos encontrar mutaciones en un 50% en KRAS, en contraste con los carcinomas de células pequeñas y grandes de pulmón donde es muy raro encontrarlas, puesto que tienen un 90% de pérdida de Rb1. Recientemente, la expresión de PDL-1 en TNE fue asociado significativamente con TNE G3 especialmente cuando el Ki-67 fue mayor que 60% (14).

### 1.1.3 Síntomas y síndromes relacionados con TNE

Ya sea aislados o con enfermedad metastásica, los TNE pueden presentar un gran espectro de síndromes paraneoplásicos relacionados con la hipersecreción de alguna amina o polipéptido, los cuales son llamados funcionales; los no funcionales no secretan dichas sustancias y son los más frecuentes. Los síndromes más representativos se describen a continuación.

#### *Síndrome carcinoide*

Es el resultado de múltiples productos de secreción tumoral como serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), histamina, calicreina y prostaglandinas, principalmente en tumores del intestino medio, seguido de tímicos y bronquiales, raramente pancreático. Estudios de cohorte retrospectivos reportan que este síndrome se presenta en 6 a 13% de los pacientes con TNE gastrointestinales y menos de 1 % de pulmonares. Este ocurre en un 20 a 30% de pacientes con metástasis a hígado y/o a hueso. El pronóstico de los TNE con síndrome carcinoide es menor en supervivencia global que los que no lo tienen (15). Dado que estas hormonas son metabolizadas por el hígado, los síntomas generalmente ocurren solo cuando la localización del tumor está fuera del sistema de drenaje de la vena porta o lo desvía. El producto de degradación de la serotonina es el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) que es excretado en la orina, el cual es útil para el diagnóstico, así como los niveles de Cromogranina A. Los síntomas dominantes atribuidos al exceso sistémico de serotonina son la diarrea y la insuficiencia cardíaca -predominantemente de lado derecho- resultante de la fibrosis endocárdica y de las válvulas cardíacas que se informa de un 8 a 56%. También puede existir disminución de la síntesis de proteínas, hipoalbuminemia y deficiencia de ácido nicotínico, por la deficiencia de triptófano, dada por el aumento de la conversión de triptófano en serotonina. Otro síntoma dominante del síndrome carcinoide es el enrojecimiento de la cara y tronco superior, que no se puede asociar directamente a la serotonina, pero está probablemente mediado por sustancias vasoactivas como bradicininas, prostaglandinas, taquiquininas, sustancia P, histamina, también liberadas por el tumor.

### *Síndromes de acuerdo con la hormona que produce*

El resto de los síndromes clínicos son dados por la sustancia que secreta el tumor como el *insulinoma* que por la secreción anormal de insulina produce hipoglucemias graves (triada de Whipple), con una incidencia de 1 a 3 casos por un millón al año, aproximadamente 10% son múltiples y menos del 10% pueden ser metastásicos en la presentación. El *gastrinoma* produce isoformas de gastrina, la cual estimula la secreción de ácido clorhídrico (HCl) por las células parietales del estómago y ayuda en la motilidad gástrica. La incidencia de gastrinomas es de 0.5 a 3 por millón al año. Estos tumores pueden estar localizados del 50% al 88% en el duodeno y páncreas, causando enfermedad ácido péptica grave y diarrea resistente a tratamientos convencionales que es el también llamado síndrome de Zollinger-Ellison. El *VIPoma* tumor que secreta Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP), con acción en múltiples órganos y sistemas, las manifestaciones clínicas que ocasiona -también llamado síndrome de Verner-Morrison- consisten en diarrea secretora acuosa abundante con alteraciones electrolíticas (hipokalemia), enrojecimiento facial y aclorhidria. El *Glucagonoma* produce glucagón que aumenta las concentraciones de glucosa y ácidos grasos, lo que ocasiona que debute con diabetes mellitus o empeore la ya existente, por su efecto catabólico, se produce una pérdida de peso en el 70-80% de los pacientes, la manifestación cutánea más característica es el eritema necrolítico migratorio, además de queilosis, glositis, estomatitis, eventos tromboembólicos y anemia. El *somatostatinoma* es muy raro y su síndrome consiste en diabetes mellitus de inicio reciente, disminución en la secreción ácida del estómago, colelitiasis, esteatorrea, anemia y pérdida de peso. Los tumores neuroendocrinos también pueden secretar otros tipos de hormonas, lo cual usualmente está asociado a progresión de la enfermedad, así como un incremento en la morbilidad y mortalidad. Pueden causar síndrome de Cushing por la secreción de ACTH, hipercalcemia por la producción de ACTH, hiponatremia por la hormona antidiurética, acromegalia por hormona de crecimiento y un síndrome que consiste en diarrea no acuosa, colelitiasis, úlcera péptica, y pérdida de peso significativa por la secreción de colecistoquininas(1).

#### **1.1.4 Síntomas no hormonales**

Muchos tumores neuroendocrinos no funcionales pueden presentarse sin síntomas y llamarse incidentalomas cuando se descubren por métodos de imagen o endoscopia, no obstante, las molestias pueden surgir por la localización del tumor primario o la metástasis, por la compresión, el crecimiento o la obstrucción de estructuras vitales, presentándose generalmente de manera tardía aumentando la probabilidad de metástasis en hígado. El dolor abdominal es común en TNE GEP. La fibrosis es una característica patognomónica de metástasis mesentéricas llevando a dolor postprandial por isquemia venosa o posible perforación. La obstrucción intestinal mecánica no es frecuente, pero puede ocurrir. Debido a las metástasis hepáticas extensas puede haber hepatomegalia, incluso dolor e ictericia. Síntomas respiratorios pueden aparecer en TNE primarios de pulmón o en metástasis pulmonares, especialmente cuando están localizados cercanos a las vías aéreas. Síntomas sistémicos de malignidad como caquexia, fiebre, diaforesis nocturna se presentan rara vez en TNEbd pero pueden aparecer en aquellos de alto grado (1) . Los sitios principales de metástasis a distancia son hígado, cavidad peritoneal, pulmón, hueso y localizaciones de mucho menor frecuencia son cerebro, corazón y ovarios (16).

### **3.2. Histopatología de los TNE**

El diagnóstico histopatológico de las NNEs está basado en características histológicas distintivas, así como la expresión de marcadores generales de diferenciación neuroendocrina como cromogranina A y sinaptofisina. En el pasado, había una dificultad para el manejo de estos tumores, ya que no había estándares universales para ello a pesar de su nomenclatura, estratificación pronóstica y estadio. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2000 hubo un intento para resolver esta situación, sin embargo, fue confuso. Subsecuentemente se volvió evidente que las NNE son un grupo heterogéneo de lesiones con potencial maligno ubicuo. Su habilidad para metastatizar o invadir estructuras adyacentes dependía del sitio del tumor, tipo y comportamiento biológico.

Los TNEbd pueden ser de bajo, intermedio o alto grado, manifiestan un patrón organoide (nidos sólidos rodeados de finos septos fibrosos), trabecular, giriforme, pseudoglandular o sólido, con atipia leve a moderada, núcleos redondos a ovals, uniformes, cromatina granular fina (en sal y pimienta) y citoplasma granular. Usualmente sin necrosis, aunque puede ser de manera muy focal. Suelen expresar marcadores de diferenciación neuroendocrina (como sinaptofisina -difusa e intensa- y cromogranina -usualmente-) y hormonas (no siempre y no necesariamente difusas). En los casos en que está asociado a un síndrome hormonal (como ya se ha comentado), se categorizan como insulinoma, glucagonoma, somatostatina, gastrinoma, VIPoma, tumor productor de serotonina (con o sin síndrome carcinoide), tumor productor de ACTH, etc (13) .

Los CNE son NNE poco diferenciadas de alto grado, que tienen una similitud menor a las células neuroendocrinas, muestran en su mayoría patrón de crecimiento sólido, en láminas o difuso, incluso infiltrante, aunque también pueden presentar las morfologías descritas en los TNEbd; se observan con mayor grado nuclear, con pleomorfismo, anisonucleosis, irregularidad en los contornos nucleares, pérdida de la relación núcleo citoplasma, así como presencia de necrosis, alto número de mitosis y de Ki-67. La expresión de inmunohistoquímica para los marcadores neuroendocrinos puede ser menor en extensión e intensidad, puede ser sinaptofisina difusa o débil, así como cromogranina A focal o débil, usualmente sin expresión de hormonas. Estos se asocian a un curso clínico rápido.

Las características histológicas del tumor, generalmente no se correlacionan con su ubicación anatómica o la producción de hormonas, no obstante, hay excepciones, por ejemplo, el depósito de amiloide (péptido asociado a la insulina) con frecuencia indica un TNE pancreático secretor de insulina. Cuando se observa abundante formación de cuerpos de psammoma, esto generalmente nos indica la presencia de un somatostatina duodenal o ampular. Los TNEbd de intestino medio, particularmente íleon, presentan arquitectura conformada por nidos sólidos o con luces, con empalizada nuclear en la periferia, con núcleos ovals,

relativamente uniformes con citoplasma eosinófilo granular.

### **3.2.1. Clasificación**

Las propuestas específicas de sitio para la nomenclatura y la clasificación difieren en terminología y en los criterios para la gradificación histológica y estadificación. Por ahora no hay un solo sistema de nomenclatura, clasificación o estadificación que sea adecuado para las NNEs en todos los sitios anatómicos. Sin embargo, la mayoría de los sistemas de clasificación comparten la tasa de proliferación del tumor y la extensión.

Las NNEs del tracto urinario no son usuales, los cuales ocurren en vejiga y riñón. En el aparato genital femenino el sitio más frecuente de TNE es el cérvix y después los ovarios, aunque se han reportado en endometrio, vagina y vulva. En cuanto al aparato genital masculino, el sitio más común es próstata.

Las NNEs de pulmón, timo y mediastino se clasifican en tumores carcinoides típicos (G1), carcinoides atípicos (G2) y carcinoma neuroendocrino de células grandes y carcinoma neuroendocrino de células pequeñas (G3). Los tumores carcinoides típicos la mayoría son indolentes, representan el 2% de los TNE de pulmón y se presentan en pacientes jóvenes (45-50 años) frecuentemente localizados centralmente sin asociación al tabaco o predilección por género. Los carcinoides atípicos corresponden al 0.2% de los TNE de pulmón, se localizan más comúnmente en la periferia, estos sí se encuentran asociados al tabaquismo y se presentan más en hombres. El carcinoma neuroendocrino de células pequeñas suele presentarse en hombres mayores con una media de edad de 65 años, con fuerte asociación al tabaco, es el TNE más común (13-20%) con un comportamiento agresivo, en estudios de imagen se presenta con aumento del volumen mediastinal y de los nódulos linfáticos del hilio. Son frecuentes las metástasis a hueso, cerebro, hígado y adrenales. Este se ha asociado a diversos síndromes paraneoplásicos. El carcinoma neuroendocrino de células grandes, igualmente se presenta en hombres, con historia similar al de células pequeñas, pero este es raro que se

manifieste con síndromes paraneoplásicos y es más periférico.

La clasificación de los TNE-GEP ha evolucionado en las últimas décadas, donde en la nueva edición de la clasificación del sistema digestivo de la OMS 2019 propone dividirlos en bien diferenciados (G1, G2, G3) y poco diferenciados (carcinoma de células pequeñas y células grandes), se hablará de esto más adelante.

Hay una clasificación especial para los TNE gástricos, ya que tienen mecanismos fisiopatológicos diferentes. Los de tipo 1 surgen de células enterocromafines como consecuencia de hipergastrinemia crónica resultado de gastritis atrófica. Los tipo 2 crecen de estas células debido a estimulación endocrina, por secreción de gastrina de un gastrinoma en el contexto del síndrome de Neoplasia Endocrina Múltiple tipo 1 (NEM1). Los tipo 3 son esporádicos, solitarios, y se desarrollan en ausencia de niveles elevados de gastrina y con comportamiento agresivo a pesar de su morfología bien diferenciada. Los tipo 4 son carcinomas poco diferenciados con mal pronóstico (3).

En 2010 en la clasificación de la OMS se describió un grupo separado de neoplasias y fue llamado carcinoma mixto neuroendocrino con no neuroendocrino (antes MANEC, ahora MiNEN). Estos tienen el fenotipo que es morfológicamente reconocible como ambas neoplasias donde forma glándulas en el componente epitelial y a la vez tiene células neuroendocrinas, pueden tener componentes bien diferenciados como G1 o G2 aunque usualmente el componente es de alto grado como G3. Ambos componentes deben ser gradificados. Es importante gradificar el componente neuroendocrino, ya que se ha visto que el índice de proliferación Ki-67 influye en el pronóstico de los MiNEN (17). Arbitrariamente, al menos el 30% de cualquiera de estos componentes debe ser identificado para que entre en esta definición (3). En nuestro estudio, este tipo de neoplasias no se considerarán, ya que tienen un comportamiento y tratamiento diferente.

### **3.2.2. Gradificación tumores neuroendocrinos**

El pronóstico de pacientes con estos tumores generalmente es difícil de predecir (18). La morfología por sí sola no discrimina adecuadamente entre subgrupos de pronóstico significativo en TNEbd. Aunque el pleomorfismo nuclear se correlaciona con la diferenciación y el comportamiento maligno de otros tipos de tumores, se menciona que es de poca utilidad en las NNE. Anteriormente, se sostenía que la única evidencia de malignidad era la invasión local o metástasis, pero actualmente, se considera que todos los TNEbd tienen potencial metastásico. Por lo tanto, para determinar un parámetro confiable que se correlacione con la supervivencia y optimice el manejo del paciente se han utilizado diferentes esquemas de clasificación.

La uniformidad en la clasificación de los tumores neuroendocrinos gastropancreáticos presentados por la OMS, no debe interpretarse como sugestivo de que las NNE son un grupo homogéneo de neoplasias relacionadas íntimamente, este no es el caso. Cada órgano da lugar a diferentes tipos de NNE, con diferente funcionalidad, características histológicas diferentes, diferentes bases genómicas. Estas características distintivas, significan que el tratamiento médico y quirúrgico de las NNE es altamente dependiente del sitio de origen.

En conjunto con el estadiaje TNM, el grado histológico juega un papel muy importante en las evaluaciones clínicas (19). El mismo esquema de clasificación actualmente está avalado por la Organización Mundial de la Salud (OMS 2017, 2019), the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS), y the American Joint Committee of Cancer (AJCC). Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos se clasifican en grados bajo (G1), intermedio (G2) y alto (G3) según los recuentos mitóticos (G1, <2; G2, 2–20; G3, > 20 por 10 campos de alto poder de 0.5 mm, objetivo de 40x) o el índice de proliferación Ki-67 (G1, <3%; G2, 3–20%; G3, > 20% en el hot spot) (20). Los carcinomas neuroendocrinos (CNE) se consideran de alto grado y poco diferenciados por definición (Tabla 1). Los TNE de origen primario desconocido, especialmente los bien diferenciados, se

presentan inicialmente con metástasis hepáticas correspondiendo la mayoría de ellos a TNE-GEP, siendo el grado histológico de la metástasis el único parámetro disponible para este grupo de tumores(21).

Terminología	Diferenciación	Grado	Conteo de mitosis (mitosis/2 mm <sup>2</sup> )	Índice de Ki-67
TNE, G1	Bien diferenciado	Bajo	< 2	<3%
TNE, G2		Intermedio	2-20	3-20%
TNE, G3		Alto	>20	>20%
CNE, células pequeñas	Poco diferenciado	Alto	>20	>20%
CNE, células grandes			>20	>20%
Neoplasia mixta neuroendocrina – no neuroendocrina	Bien o poco diferenciado	Variable	Variable	Variable

**Tabla 1.** Criterios de clasificación y gradificación de neoplasias neuroendocrinas del tracto gastrointestinal y órganos hepatopancreatobiliares (OMS, 2019).

Cuando se realiza la evaluación del índice de mitosis, es muy importante hacerlo con precisión, ya que una figura mitótica puede hacer la diferencia entre un bajo grado o un grado intermedio. Se recomienda solo tomar en cuenta las mitosis bien definidas, excluyendo los cuerpos apoptóticos, los núcleos picnóticos o núcleos degenerados con tinción oscura. El tamaño del campo microscópico es muy importante. Se establece el tamaño de 10 campos de alto poder (HPF) en 2 mm<sup>2</sup> para la estandarización, con un objetivo de 40x, con un diámetro de campo ocular de 0,5 mm, aunque en las diferentes marcas de los microscopios esto puede variar, y esto no se ha estandarizado. Se recomienda contar en 50 campos de 0,2 mm<sup>2</sup> (es decir, en un área total de 10 mm<sup>2</sup>), aunque se reconoce que un recuento preciso puede no ser posible determinar cuándo solo hay una pequeña muestra disponible (13). Otro punto que puede causar variabilidad es el grosor del corte histológico, la proporción de células tumorales y estroma y la variación del tamaño de las células tumorales.

El índice de proliferación Ki-67 es determinado contando al menos 500 células en las regiones con mayor marcación (hot spot), las cuales son determinadas a pocos aumentos. Cuando hay discordancia entre la tasa mitótica y el índice Ki-67, la calificación más alta de las dos evaluaciones asigna el grado final (22). Vale la pena enfatizar que el índice de Ki-67 no solo es más reproducible sino también más valioso que los conteos mitóticos, ya que generalmente produce una puntuación más alta y se puede realizar en muestras limitadas o biopsias pequeñas como es usual al evaluar una biopsia por trucut de una metástasis hepática (23). De este modo, es importante además de reportar el grado, informar el porcentaje calculado del Ki-67.

Antes se consideraba que la categoría G3 era sinónimo de poco diferenciado y carcinoma (2010). Ahora en la edición más reciente del libro de la OMS del sistema digestivo (2019) y de tumores endocrinos (2017) se tiene el concepto que hay tumores bien diferenciados de alto grado debido a su índice de proliferación, por lo tanto, hay tumores G3 bien diferenciados.

La cuestión de separar a los TNE y los CNE en diferentes familias viene de diversas fuentes (24), (25), (26), (27) (28) . Aunque ambos muestran diferenciación neuroendocrina basado en la inmunohistoquímica de Cromogranina A y Sinaptofisina, la mayoría de los TNE son morfológicamente distintos a los CNE, los cuales están subclasificados en CNE de células pequeñas y CNE de células grandes (Cree, 2019). Los TNEbd tienen una arquitectura organoide (nidos, cordones, trabéculas), con características nucleares uniformes, cromatina granular gruesa y necrosis mínima. Los CNE tienen menor arquitectura en nidos, con frecuencia un patrón de crecimiento en láminas, sólido, núcleos fusiformes o redondos muy compactos con cromatina finamente granular, núcleos con marcada atipia, a veces con nucléolos prominentes; la necrosis es usualmente abundante. Los TNE pueden mostrar progresión en el grado (de G1/G2 a G3), esto reflejado con un aumento en la tasa de proliferación o cambio en la morfología, aumento de la atipia nuclear o presencia de necrosis significativa, ya sea dentro del tumor en el

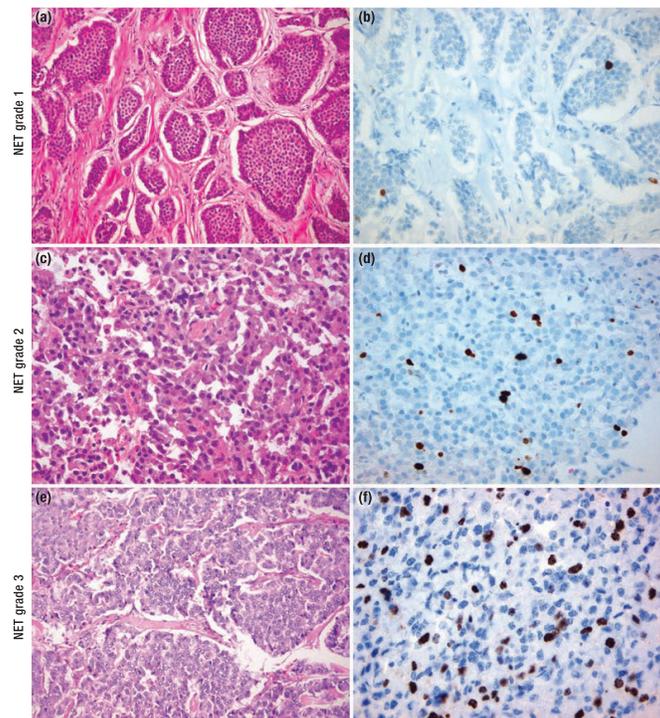
momento de la presentación o en diferentes sitios (primario vs metástasis) durante el curso de la enfermedad. La presencia de componentes de bajo y alto grado dentro de un mismo tumor proporciona fuerte evidencia de que el componente de alto grado permanece siendo una neoplasia bien diferenciada.

Los CNE no crecen comúnmente en asociación con TNE, sino que surgen de lesiones precursoras que dan origen a carcinomas no neuroendocrinos de los respectivos órganos, como adenomas del colon o displasia epidermoide del esófago y pueden estar mezcladas con estas neoplasias y ser una neoplasia mixta (componente neuroendocrino y no neuroendocrino si tienen >30% del tumor). Sin embargo, también podemos encontrar TNE bien diferenciados en estos tumores mixtos. Por lo anterior, la progresión de TNE a CNE generalmente no ocurre, aunque hay casos reportados. Como se ha mencionado, se ha observado que las mutaciones propias de los CNE poco diferenciados como TP53 y RB1, no se encuentran en los tumores G3 bien diferenciados.

En lo que respecta al contexto clínico, también es importante la necesidad de distinguir entre CNE y TNEbd de alto grado. Hay un pequeño subconjunto de pacientes con TNE que histológicamente parecen bien diferenciados con menos de 20 mitosis, pero asociados a altos índices de proliferación Ki-67 >20% que caen en el rango de G3, así el comportamiento de estos tumores discordantes es algo peor que un G2 pero mejor que un CNE poco diferenciado. Se han reportado casos diagnosticados como CNE que no respondieron a la quimioterapia (30), pero paradójicamente sobrevivieron más que los otros; probablemente estos casos correspondieron a TNEbd G3. Previamente todos los CNE eran G3; para evitar confusiones, la propuesta es que se no se le asigne grado a los CNE ya que por definición son de alto grado y poco diferenciados. La mayoría de TNE tiene una tasa de mitosis y un índice de proliferación relativamente bajos, que en la clasificación previa correspondía a <20 mitosis en 2 mm<sup>2</sup> y un Ki-67 <20%. Sin embargo, hay algunos TNE, en particular aquellos que crecen en el páncreas, que tienen un índice de proliferación Ki-67 >20% con valores de hasta >70-80% en

algunos casos. Por tanto, el Ki-67 no puede usarse solo para distinguir concluyentemente un TNEbd de un CNE. Los datos sugieren que los G3 bien diferenciados tienen menos probabilidades de responder a la quimioterapia basada en platino que los poco diferenciados.

Actualmente en los TNE-GEP no hay un punto de corte en G3 para separar CNE de un TNE, ya que ambos son >20%. Se ha visto, que la presencia de una cohorte de 800 neoplasias con un índice de proliferación de Ki-67 de 20-55% dentro de TNE G3, que responden menos bien a la quimioterapia basada en platino, pero sobreviven más tiempo que aquellas con un KI-67 mayor de 55% añade mas apoyo a la heterogeneidad y necesidad de distinción de estas categorías, lo cual ayudaría en el abordaje terapéutico (30). Así, los tumores G3 retienen un patrón histológico bien diferenciado y tienen un Ki-67 >20% y usualmente de <55%.



**Imagen 1.** Extraída de Hofland et al. (3) Histopatología de NNE. **A.** Hematoxilina y eosina (H&E, 200x) y **B.** Ki-67 (400x) marcan para TNE G1 muestra nidos de células neuroendocrinas con núcleos ovales, cromatina en sal y pimienta, moderado citoplasma eosinófilo. Los nidos están separados por estroma fibroso. La marca nuclear para Ki-67 es solo visible en algunas células neoplásicas (Ki-67 <3%). **C.** TNE G2 revela población homogénea de células neuroendocrinas con cierta atipia, núcleos redondos a ovales, cromatina densa y moderado citoplasma anfófilico. **D.** Ki-67 muestra 5% en el hot spot. **E.** TNE G3 muestra histología bien diferenciada con núcleos vesiculosos sin nucléolo y citoplasma moderado anfófilico en un patrón en nidos, mientras que el **F.** Ki-67 es mayor a 20.

### 3.2.3 Conteo de Ki-67

Aunque la inmunohistoquímica con Ki-67 es una herramienta ampliamente aceptada para clasificar los tumores neuroendocrinos, existen ciertos problemas respecto a este parámetro. Uno de ellos es el saber qué métodos de conteo son confiables. En un artículo de Tang et al. (31), el análisis de imágenes digitales y el recuento manual proporcionaron una mejor consistencia interobservador e intraobservador que las estimaciones “al tanteo” (22). Desde un punto de vista práctico, el recuento manual no a través del microscopio sino en una pantalla de computadora o con una versión impresa de una imagen capturada sería el método de elección actual. Otro problema es la heterogeneidad del Ki-67 en un solo tumor, de esta manera, el índice de Ki-67 que es engañosamente bajo siempre es una posibilidad con muestras de biopsia con aguja.

De esta manera, se captura una imagen a un aumento de 400x o seco fuerte del campo donde hay mayor densidad de células positivas para Ki-67, es decir, el “hot-spot”. Con ayuda del programa QPath (30, véase anexo 3) -u otro programa como QIA- se inserta la imagen capturada y se comienzan a marcar las células positivas (café) para Ki-67 de un color y las negativas (azul) de otro color dando clic sobre ellas. Las células no neoplásicas no se marcan, por lo que es importante hacer la distinción de células estromales y linfocitos. Al menos 500 células positivas y negativas se deben contar. De este modo, se calcula el porcentaje de Ki-67 =  $(\text{núcleos positivos} / [\text{núcleos positivos} + \text{núcleos negativos}])$ . Lo mismo se puede hacer imprimiendo la imagen del “hot spot” y contarlo manualmente. En el estudio de Tang, uno de los autores se encargó de realizar lo previamente mencionado y otro se encargó de verificar la precisión en el conteo. El uso de imágenes para el conteo del índice de proliferación de Ki-67, pueden suceder que se de un porcentaje fraccionado que caiga entre alguno de los grados dados por la OMS o ENETS, de esta manera, en su estudio, se redondearon los porcentajes finales al número más cercano, por ejemplo, casos con Ki-67 de 2.5 a 2.9% fueron gradificados como G2 y aquellos <2.5% fueron considerados como G1.

### **3.2.4 Metástasis hepáticas**

Cerca del 40%-50% de pacientes con un tumor neuroendocrino bien diferenciado se presentan con metástasis a distancia, más comúnmente en el hígado (33), en el momento del diagnóstico (34). Como se ha mencionado antes el tumor primario es imposible de encontrar en un 11% de TNEbd a pesar del buen abordaje clínico y radiológico. En este contexto, a menudo se toma una biopsia de hígado para confirmar el diagnóstico.

El tener metástasis en hígado es un evento pronóstico adverso, reduciendo a 20-40% la tasa de supervivencia a 5 años. (35) Cuando se descubre la metástasis hepática como presentación inicial se refiere con frecuencia como “metástasis hepáticas sincrónicas”(36).

Hay poca información disponible sobre si el porcentaje de Ki-67 cambia o no cuando los tumores neuroendocrinos hacen metástasis a otros órganos (37). Para los pacientes con tumores neuroendocrinos y metástasis sincrónicas del hígado, no está claro si el grado histológico del tumor primario representa el del tumor diseminado (38). Una razón por la que esto no se ha explorado hasta ahora es que las muestras de patología adecuadas para la comparación son limitadas. Las muestras de biopsia hepática no son ideales dada la heterogeneidad de Ki-67 en la masa hepática (39). Las resecciones metacrónicas de tumores primarios y metastásicos a veces se llevan a cabo con quimioterapia adyuvante o ligadura de la vena porta en el medio, pero las intervenciones médicas probablemente afectan la proliferación de células cancerosas (40). Teniendo en cuenta estas limitaciones, las resecciones sincrónicas de tumores primarios y metástasis hepáticas parecen ser la única oportunidad para comparar con precisión los índices de Ki-67 en los dos sitios (36).

En Italia se realizó una reevaluación de los TNE y sus metástasis en 60 pacientes encontrando heterogeneidad intratumoral del Ki-67 suficiente para cambiar el grado histológico en 3 de 60 casos (5%). De 49 pacientes con TNE

primario y metastásico, la discrepancia en grado entre ellos fue identificado en 19 casos (39%) y en particular en 11 de 47 (23%) y 10 de 12 (83%) pacientes con metástasis sincrónicas y mecetrónicas respectivamente. El cambio en el grado fue mas frecuente en metástasis a distancia comparadas con las locorreregionales, en particular en sitios distantes diferentes al hígado. Por tanto, los TNE con frecuencia muestran diferencias entre el sitio primario y sus metástasis, por lo que la evaluación del Ki-67 de todos los sitios puede ser significativo para el manejo del paciente (41).

### **3.3 Factores pronósticos**

Las neoplasias neuroendocrinas muestran un espectro de comportamientos que su tratamiento se vuelve un reto. Esto último se debe en parte al curso natural variable de la enfermedad, pero también a la falta de evidencia sólida del efecto y el resultado de las opciones de tratamiento disponibles, así como el valor pronóstico de algunas características histopatológicas presentes en los diferentes tumores.

Los criterios que predicen el riesgo de progresión de los TNE esta dada por el estadio de TNM. El índice de proliferación Ki-67 se ha visto que tiene en particular, mayor probabilidad y significancia estadística que los demás para predecir el comportamiento de un tumor dado (42). Sin embargo, el predecir el desenlace de un TNE requiere un seguimiento clínico completo, ya que las metástasis pueden ocurrir varios años después de la resección del primario. Otros marcadores de inmunohistoquímica además del Ki-67 como CK19, CD99, CD44 y P27 se han reportado, sin embargo, no han sido validados en una cohorte grande. Estudios genéticos recientes en TNE pancreáticos, han demostrado que pacientes con mutaciones en DAXX y ATRX tienen peor evolución clínica que aquellos que tienen fenotipo salvaje. Esto en particular en tumores G2 (43). De igual modo, los TNE primarios pancreáticos con pérdida de la trimetilación de la Histona H3 lisina 35 (H3K36me3), expresión de ARID1A y delección de CDKN2A se han reportado con peor pronóstico, aunque aún se requiere mayor investigación sobre estas anomalías genéticas.

Respecto a lo que se ha venido comentando, estudios previos que analizaron factores pronósticos han mostrado resultados contradictorios (44). En un estudio retrospectivo que incluyó 256 pacientes con tumores neuroendocrinos del intestino medio, 194 de estos pacientes tenían metástasis hepáticas. El análisis multivariado se realizó en 71 pacientes que tenían datos completos. La edad avanzada y la cromogranina A en plasma  $5000 \text{ mg / l}$  fueron predictores significativos de supervivencia global (45).

En 2009 se publicó un estudio con 146 pacientes con TNE metastásico (46) donde encontraron que la cirugía citorreductora hepática y la edad eran factores pronósticos significativos. No consideraron Ki-67 como un factor pronóstico, a diferencia de lo que comenta la OMS y Pelosi. Hubo 21% de pacientes que no tenían sitio del tumor primario identificado, aunque se sospechaba un TNE. La resección del primario no se asoció con el beneficio de supervivencia en este estudio. En otro estudio de 399 pacientes, encontró un mejor pronóstico asociado a tumores primarios que midieran  $< 2.5 \text{ cm}$ , ausencia de metástasis hepáticas, ausencia de síntomas carcinoides y un bajo Ki-67 en Pape et al. 2008. Dos estudios han identificado que el pronóstico de los pacientes con TNE depende del género y la presencia de metástasis hepáticas (47).

En un estudio realizado en 2009, que es el más completo que se ha llevado a cabo en cuanto al análisis de los factores pronósticos, se intentó identificar los factores pronósticos y los resultados de las intervenciones en pacientes con TNE metastásicos del intestino medio del hígado. Cinco instituciones que forman parte del grupo de tumores neuroendocrinos (NET) de Reino Unido e Irlanda participaron en este estudio. Los pacientes se incluyeron si tenían un TNE comprobado histológicamente de origen intestinal medio y metástasis hepáticas en el momento del estudio. 360 pacientes fueron incluidos en el estudio. La mediana de supervivencia desde la fecha de diagnóstico fue de 7.69 años (intervalo de confianza (IC) 6.40–8.99) y 5.95 años (IC 5.02–6.88) desde la fecha de diagnóstico de metástasis hepáticas. En el análisis univariado, la edad avanzada al momento

del diagnóstico, el aumento de los niveles urinarios de ácido hidroxindol acético, el aumento de los niveles plasmáticos de cromogranina A, el alto Ki-67, el alto volumen tumoral y el tratamiento con quimioterapia se identificaron como factores asociados con un resultado significativamente peor. La resección de metástasis hepáticas, la resección primaria del intestino delgado, el tratamiento con análogos de somatostatina se asoció con un mejor pronóstico. El análisis multivariado reveló que la edad al diagnóstico, el nivel de Ki-67 y la resección primaria fueron predictores independientes de supervivencia (48).

### **3.4 Tratamiento**

La dicotomización de los TNE entre alto y bajo grado, bien diferenciados y poco diferenciados es altamente relevante para el pronóstico y tratamiento de elección. Sin embargo, esta división para entender su conducta no es absoluta, ya que varios tumores etiquetados histológicamente como bajo grado se han comportado más como enfermedad progresiva avanzada que requiere tratamiento sistémico con quimioterapia citotóxica. Paradójicamente, las células con rápida división celular de los tumores de alto grado son potencialmente erradicables con quimioterapia múltiple, mientras que aquellos que muestran una tasa de mitosis menor, generalmente los hace más resistentes al tratamiento.

La regla clínica es que los tumores de bajo grado sean manejados con resección quirúrgica del sitio primario, mientras que aquellos que son irreseccables con enfermedad sintomática sean tratados con análogos de somatostatina o interferón alfa, aunque la regresión del tumor con estos agentes no es común. En contraste, la quimioterapia basada en etopósido y platino es el pilar del tratamiento de los tumores de alto grado y las metástasis. Sin embargo, otros agentes y modalidades terapéuticas se encuentran bajo investigación, estas incluyen el sunitinib y everolimus, así como otros péptidos y radioembolización (2).

Dada la heterogeneidad de los TNE, el tratamiento para los tumores G3 no está estandarizado y está basado entre el tratamiento de un G1/G2 y un CNE. La localización principal de los G3 son el páncreas, el estómago y el colon. Las guías

europas y americanas recomiendan resección quirúrgica de la NNE localizada, en enfermedad no metastásica, independientemente del grado del tumor. En G3 la quimioterapia es el punto de referencia si el objetivo principal del tratamiento es la reducción del tamaño tumoral, particularmente si se desea una segunda cirugía (49).

Las guías de la NCCN recomiendan que cuando ya se encuentra en estadio IV, es decir con enfermedad metastásica como en nuestro estudio, se realice la resección completa del tumor primario si es posible, así como de las metástasis. Sin embargo, si el tumor es muy pequeño y el paciente se encuentra asintomático se puede mantener en observación con estudios de imagen cada 12 semanas o 12 meses dependiendo el caso o dar tratamiento con análogos de somatostatina (AS) como ocreótide o lanreótide. Si la enfermedad ha progresado y no se había iniciado AS, indicarlos. Si a pesar del tratamiento, continúa progresando la enfermedad metastásica, intentar con Everolimus, Lutecio 177 con terapia con radionúclidos de receptor de péptidos (PRRT), terapia dirigida al hígado o radioterapia (RT) paliativa si hay metástasis a hueso o quimioterapia citotóxica (platinos con etopósido) si no existe otra opción factible. Si la carga tumoral es significativa dar AS o terapia sistémica de primera línea o terapia dirigida al hígado (50).

Si se trata de un tumor G3, se recomienda el análisis histopatológico completo con determinación del índice de proliferación de Ki-67, y si es posible evaluar la presencia de mutaciones en Rb1 o p53. Ya que se evaluó completamente con estudios de imagen y el tumor es resecable, hacer procedimiento quirúrgico. Si ya hay enfermedad metastásica, si el tumor tiene un Ki-67 de <55% además de los tratamientos ya mencionados en el párrafo anterior como AS se pueden dar esquemas de quimioterapia como temozolomide con capecitabina, FOLFOX, CAPEOX o los ya mencionados basados en platinos, así como terapia dirigida al hígado. Y si tiene >55% iniciar directamente con quimioterapia basada en platinos, pembrolizumab, terapia basada en irinotecan o nivolumab, además de embolización hepática o RT paliativa en hueso(50).

#### 4 JUSTIFICACIÓN

No existen estudios que analicen las características histopatológicas de los TNEbd metastásicos en hígado en pacientes mexicanos y son escasas las series que ilustran el efecto de esa diseminación en la sobrevida de los pacientes.

La dependencia de su gradificación en las mitosis y en el índice de proliferación medido con inmunohistoquímica para Ki-67, obligan a la búsqueda de otras variables morfológicas que permitan dimensionar mejor esta enfermedad neoplásica.

A través de esta serie de casos de lesiones metastásicas, se podrá explorar el rendimiento de algunos marcadores de inmunohistoquímica para sugerir posibles sitios primarios, en aquellos pacientes en los que se cuente con el estudio histológico de la lesión inicial.

En la actualidad, estos se gradifican según ciertos criterios adaptados a su origen, con el objetivo de proveer pronóstico y orientar el caso al mejor tratamiento posible. Estas neoplasias varían de tumores neuroendocrinos bien diferenciados a carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados de los cuales se ha descrito su historia natural en diversas publicaciones, que en teoría según el grado histológico es el grado de agresividad. Sin embargo, la mayoría de los estudios se han visto limitados y los seguimientos han sido inconsistentes. Las neoplasias neuroendocrinas muestran un espectro de comportamiento muy variable lo que hace que el tratamiento sea un reto, ya que algunos exhiben un patrón histológico indolente con crecimiento lento y poca agresividad mientras que otros con el mismo patrón se pueden comportar de manera agresiva, diseminándose rápidamente, siendo el hígado el principal sitio de metástasis.

En México no se ha realizado este tipo de estudios, y, por ende, aquellos que se han hecho en otros países no son aplicables en nuestra población, por ello, al encontrarnos en un hospital de tercer nivel y ser centro de referencia de todo el país, se considera pertinente analizar cuáles son aquellos elementos que tienen

impacto en la supervivencia de los pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) con este tipo de tumores.

De este modo, se plantea caracterizar el perfil histopatológico, tomando en cuenta otras características del tumor, además del grado histológico y correlacionarlo con su evolución clínica, el potencial metastásico, la carga tumoral, las intervenciones realizadas y la supervivencia para que de esta forma se pueda tener una idea más clara de la conducta a seguir, así como encontrar nuevos enfoques de tratamientos que mejoren la esperanza, calidad de vida y potencial curativo de estos pacientes. Por otro lado, nos permitirá tener la base para crear estadística sobre las mismas en nuestra población y además de ello, sobre su comportamiento pudiendo incluso darnos datos para crear tablas de supervivencia en base a su sobrevida.

## **5 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los tumores neuroendocrinos son neoplasias infrecuentes, los más comunes son aquellos que se originan en el tracto gastrointestinal, especialmente en el intestino delgado y páncreas. Se ha visto que su comportamiento es variable dependiendo del sitio de origen y su grado de diferenciación. En estudios previos se ha encontrado que a pesar de ser bien diferenciados tienen potencial de metastatizar hacia otros sitios, siendo el más común, el hígado, donde en las metástasis podemos encontrar un grado diferente al primario. En nuestro país no se ha examinado detalladamente esta cuestión, por ello se analizarán las características histopatológicas de los tumores metastásicos en hígado de pacientes atendidos en nuestro instituto, así como el grado histológico dado por su número de mitosis y el índice de proliferación Ki-67 que puedan tener un impacto pronóstico en la vida de estos pacientes. Esto para unificar las inconsistencias en cuanto al comportamiento de estas neoplasias y así proveer mejores enfoques terapéuticos para el abordaje integral de estos pacientes.

## **6 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuáles son los hallazgos clínico-patológicos que influyen en el pronóstico de pacientes con metástasis hepáticas de tumores neuroendocrinos bien diferenciados (TNEbd)?

Hipótesis alternativa: Existe diferencia significativa entre el grado de diferenciación y el pronóstico.

## **7 OBJETIVOS**

### **Objetivo principal único:**

- Identificar factores clínico-patológicos con influencia pronóstica en TNEbd con metástasis en hígado.

### **Objetivo Exploratorio:**

- Conocer la frecuencia, tipos de neoplasias neuroendocrinas y sus curvas de supervivencia cuando desarrollan metástasis en hígado

## **8 METODOLOGÍA**

### **8.1 DISEÑO DEL ESTUDIO Y LUGAR DE TRABAJO**

**Diseño del estudio:** Estudio retrospectivo longitudinal descriptivo.

**Universo de estudio:** Pacientes con diagnóstico histopatológico de tumor neuroendocrino metastásico en hígado en un periodo del año 2000 al 2020.

**Lugar en donde se realizará el protocolo:** Departamento de patología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

**Duración del estudio:** un año.

### **8.2 SELECCIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA**

La selección de la muestra se efectuó del total disponible. Se analizó la base de datos del departamento de patología del INCMNSZ en búsqueda de casos con diagnóstico histopatológico de tumor neuroendocrino metastásico en hígado desde el año 2000 hasta el año 2020. Se recopilaron los casos que contaron con bloque de parafina y laminillas, así como de existir el material del sitio primario, los cuales se registraron por medio de un “Instrumento de recolección de datos” (véase anexo 2) que se elaboró para examinar los hallazgos morfológicos de cada neoplasia, así como los datos clínicos pertinentes a cada caso.

**Tamaño de la muestra:** 53 casos.

**Tipo de muestreo:** No probabilístico.

### 8.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

#### **Criterios de inclusión:**

- Todos los casos de tejido hepático (trucut, cuña, hepatectomía, metastasectomía, implante hepático, explante hepático) con diagnóstico de tumor neuroendocrino metastásico en hígado, tumor neuroendocrino bien diferenciado metastásico en hígado, tumor carcinoide metastásico en hígado, carcinoma neuroendocrino metastásico en hígado, neoplasia neuroendocrina metastásica en hígado. Independientemente de si se tiene o no el conocimiento y material del tumor primario.
- Los casos que cuenten con información clínica completa de la evolución, características de imagen del tumor hepático, intervenciones, tratamiento, situación actual, desenlace y/o muerte.

#### **Criterios de exclusión:**

- Los casos que no cuenten con adecuado seguimiento clínico, registro de intervención o tratamiento, estudios de imagen para caracterizar las lesiones hepáticas o conocimiento del desenlace.
- Los casos con tejido insuficiente en las laminillas que no permita su correcta evaluación.
- Falta de bloques de parafina o escaso tejido restante en los mismos para complementar estudio de inmunohistoquímica necesario para caracterizar la neoplasia.
- Los casos que durante el proceso se dañe o se pierda el tejido para su evaluación satisfactoria.
- Los casos que presenten artefacto por fijación o quemadura impidiendo su correcto análisis.

#### **Criterios de eliminación:**

- Los casos que, a pesar de tener diagnóstico de neoplasia neuroendocrina, no tengan metástasis en hígado.

- Identificación de otra neoplasia que no corresponda con el diagnóstico de tumor neuroendocrino metastásico en hígado.
- Casos con ausencia total de información clínica.

#### **8.4 VARIABLES**

##### **Variables dependientes:**

- Grado histológico
- Grado de diferenciación
- Patrón histológico
- Expresión de inmunohistoquímica
- Necrosis
- Apoptosis
- Pleomorfismo
- Síndrome carcinoide
- Supervivencia global

##### **Variables independientes:**

- Edad
- Sexo
- Tumor neuroendocrino
- Índice de proliferación Ki-67
- Índice de mitosis
- Sitio primario
- Tamaño del tumor de la metástasis hepática
- Cromogranina A

##### **Variables intervinientes:**

- Tratamiento
- Terapia dirigida al hígado

## 8.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Tipo de variable	Escala de medición
<b>Edad al diagnóstico</b> Independiente	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de presentación del evento.	Cuantitativa discreta	Edad en años.
<b>Género</b> Independiente	Características biológicas que definen a un ser humano como mujer u hombre.	Cualitativa dicotómica	1. Mujer 2. Hombre
<b>Tumor neuroendocrino</b> Independiente	Tipo de neoplasia originada del sistema endocrino con presencia de secreción granular, expresión de aminas y hormonas polipeptídicas, expresan cromogranina y sinaptofisina	Cualitativa nominal	
<b>Índice de proliferación Ki-67</b> Independiente	Medida del número de células que se encuentran en fase de división (S del ciclo celular) para determinar velocidad de crecimiento tumoral. Se evalúa en un campo de 400x con un mínimo de 500 células.	Cuantitativa continua	1. < 3% 2. 3-20% 3. 20-55% 4. >55%
<b>Índice de mitosis</b> Independiente	Conteo de número total de figuras mitóticas a través del microscopio de luz en secciones teñidas con H&E, en 10 campos de alto poder.	Cuantitativa continua	1. < 2 por mm <sup>2</sup> 2. 2-20 por 2 mm <sup>2</sup> 3. >20 por 2 mm <sup>2</sup>

<b>Sitio primario</b> Independiente	Lugar donde se originó el tumor neuroendocrino de localización conocida	Cualitativa nominal	1. Desconocido 2. Páncreas 3. Intestino delgado 4. Intestino grueso 5. Estómago 6. Otro
<b>Cromogranina A</b> Independiente	Marcador sérico de tumor neuroendocrino con utilidad para reflejar carga tumoral y marcador independiente de pronóstico	Cuantitativa continuo	Valores normales
<b>Grado histológico</b> Dependiente	Medida del grado de anaplasia en una célula neoplásica estimada por los valores del índice de proliferación de Ki-67 o índice de mitosis	Cualitativa ordinal	1. G1 2. G2 3. G3
<b>Grado de diferenciación</b> Dependiente	Muestra la similitud de forma y funcional que guardan las células neoplásicas con las de origen	Cualitativa dicotómica	1. Bien diferenciado 2. Poco diferenciado
<b>Patrón histológico</b> Dependiente	Disposición que adoptan las células en el frente de invasión y patrón de crecimiento.	Cualitativa nominal	Patrón de crecimiento: 1. Sólido 2. Trabecular 3. Pseudoglandular 4. Organoide
<b>Expresión de inmunohistoquímica</b> Dependiente	Reacción inmunológica de anticuerpos específicos en las células.	Cualitativa ordinal	1. Positiva 2. Negativa a Sinaptofisina, Cromogranina, Otros
<b>Necrosis</b>	Muerte de las células y los tejidos en una zona determinada de un organismo vivo.	Cualitativa ordinal	1. Presencia (porcentaje) 2. Ausencia

<b>Apoptosis</b>	Muerte celular programada.	Cualitativa ordinal	1. Presencia (focal, difuso) 2. Ausencia
<b>Pleomorfismo</b>	Variabilidad del tamaño, forma, y tinción de las células o sus núcleos. Rasgo de las displasias y neoplasias malignas.	Cualitativa ordinal	1. Presencia (focal, difuso) 2. Ausencia
<b>Síndrome carcinoide Dependiente</b>	Presencia de diarrea acuosa, flushing, broncoespasmo, hipotensión, enfermedad cardíaca derecha.	Cualitativa dicotómica	1. Presente 2. Ausente
<b>Supervivencia global Dependiente</b>	Tiempo transcurrido desde la fecha de diagnóstico histológico hasta la fecha de muerte o última visita de seguimiento en pacientes vivos.	Cuantitativa continua	Tiempo en meses

## 8.6 PROCEDIMIENTOS

Dado que es un estudio retrospectivo no se realizaron maniobras ni intervenciones en los pacientes. Se analizaron las bases de datos del departamento de patología, con lo cual se seleccionaron todas aquellas laminillas y bloques de parafina existentes en el archivo de patología de casos con biopsias de hígado que tengan tanto metástasis en este órgano, como de existir el sitio primario de TNbd, pertenecientes a pacientes del INCMNSZ en un periodo del año 2000 al 2020.

Con previa autorización del comité de ética correspondiente, en preparaciones teñidas con técnica de hematoxilina y eosina (H&E) de cada caso, bajo microscopia óptica se reevaluaron las características histológicas de los tumores como el grado nuclear, atipia, pleomorfismo, apoptosis, necrosis, invasión vascular/linfática, invasión neural, desmoplasia, patrón de crecimiento, índice de

mitosis, reacciones de inmunohistoquímica Ki-67, Cromogranina A, Sinaptofisina, CD56 entre otras. De ser necesario, se solicitaron nuevos cortes o reacciones de inmunohistoquímica para Ki-67 que es la reacción que permite discriminar los grados histológicos determinando el índice de proliferación.

Se analizaron las laminillas seleccionadas con reacción de inmunohistoquímica Ki-67, para realizar el conteo de índice de proliferación de manera manual en el “hot spot” (anexo 3), así como reevaluar el grado histológico proporcionado a la metástasis. En los casos en los que no se pudo realizar la reacción para Ki-67 se utilizó el conteo de mitosis para gradificar la neoplasia. De este modo se clasificaron -incluyendo pulmón- en TNE G1, G2, G3 bien diferenciados y poco diferenciados o carcinomas de acuerdo con los criterios de la clasificación de tumores del sistema digestivo de la OMS 2019 (véase marco teórico).

Asimismo, se obtuvieron datos clínicos generales de los pacientes, momento del diagnóstico, su evolución, sintomatología, comorbilidades, tamaño del tumor, localización, estudios de laboratorio, tratamientos recibidos, desenlace con lo que se calcularán los meses de supervivencia desde la fecha del diagnóstico. El punto final será la muerte por cualquier causa o la última nota que aparezca en el sistema.

## **8.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se analizaron a través de medidas de tendencia central y dispersión para describir a la población. Para la estadística descriptiva se utilizó como medida de tendencia central, la media aritmética; como medida de dispersión, la desviación estándar. Se realizó un análisis univariado y multivariado para determinar la supervivencia en relación con factores histopatológicos, clínicos, y de tratamiento relevantes, utilizando gráficos de supervivencia y comparaciones de Kaplan-Meier.

El análisis estadístico se efectuó mediante el Software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para Mac, versión 25.

## 8.8 ASPECTOS ÉTICOS

Los aspectos éticos de la presente investigación se han establecido en los lineamientos y principios generales que el **Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud** en su última reforma publicada en 2014, dando cumplimiento al **artículo 13**, sustentando que en esta investigación prevalecerá el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar. Apegándose al **artículo 14**, *fracción I*, justificando la investigación y posible contribución a la resolución de problemas de salud; *fracción II*, se fundamentará en hechos científicos; en el caso de la *fracción V*, se solicitará al comité de ética la dispensa de consentimiento informado mediante una carta, al tratarse de un estudio retrospectivo, sin riesgo; *fracción VI*, será realizada por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia que garantizan el bienestar del sujeto de investigación; *fracción VII*, se someterá a la aprobación del Comité de Ética en Investigación, de conformidad con lo dispuesto en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud; y en la *fracción VIII*, el protocolo se llevará a cabo cuando se tenga la autorización del titular de la institución de atención a la salud.

De la misma forma según el **artículo 16**, en esta investigación se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice, mediante un número de folio para cada participante, localizado en la hoja de recolección de datos, la cual será almacenada en una base de datos electrónica, dentro de una carpeta confidencial, en una computadora a la cual se logra ingresar mediante la contraseña de seguridad del investigador responsable. Toda información será resguardada durante un tiempo de 5 años, posterior a lo cual será eliminada, con la finalidad de salvaguardar la confidencialidad de los participantes en el estudio.

Así mismo, en lo referente al **artículo 17** en la fracción I, se considera una investigación sin riesgo, aquellos que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos.

Este estudio estará alineado a las Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos, elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su última revisión 2016, en base a las siguientes pautas: **Pauta 1**, valor social y científico y respeto de los derechos, la justificación ética para realizar investigaciones relacionadas con la salud radica en la perspectiva de generar el conocimiento y los medios necesarios para proteger y promover la salud y los derechos de las personas, considerando que la presente investigación cuenta con valor social y científico necesario para generar información confiable y válida que permita alcanzar los objetivos. **Pauta 4**, beneficios individuales y riesgos de una investigación, la cual sustenta que los beneficios individuales, son mayores a los posibles riesgos, que se considera nulo en esta investigación por tratarse de un estudio retrospectivo. **Pauta 10**, sobre modificaciones y dispensas del consentimiento informado, no se iniciará la investigación hasta no tener aprobación por parte del Comité de Ética en investigación, al cual se solicitará exención de consentimiento informado, al ser la población del estudio laminillas, bloques y expedientes clínicos de pacientes, considerado sin riesgo para ellos. **Pauta 12**, de la recolección, uso y almacenamiento de datos en una investigación en salud, se buscará respetar la confidencialidad de datos, identificándose con números de folio, en este caso, tratándose de expedientes clínicos, no se publicarán los datos personales de los pacientes, estando solo a disposición del investigador responsable e investigador asociado (51). Toda información obtenida de esta investigación solamente estará a disposición del director de tesis y tesista.

**Aspectos de Bioseguridad:** el presente estudio no presenta riesgos de bioseguridad.

## 8.9 RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

### Recursos humanos:

#### *Tesista*

- Dra. Alina Vélez Valle

Médico Residente del Curso de Especialización en Anatomía Patológica.

*Tareas:* Protocolo de investigación, recolección y análisis de datos.

#### *Investigador responsable*

- Dr. Armando Gamboa Domínguez

*Tareas:* Coordinación en la elaboración del protocolo de investigación, otorgar acceso a la información requerida para dicho protocolo, análisis de datos.

### Recursos materiales:

- Infraestructura del departamento de patología del INCMNSZ para realizar la base de datos, la evaluación del material histopatológico, así como técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica necesarias.
- Archivo de patología que resguarda bloques y laminillas.
- Sistema de resultados de patología SIPAM.
- Expediente clínico electrónico del sistema So-Teci y archivo general de expedientes.
- Resultados de estudios de laboratorio del sistema Labsis.

### Recursos financieros:

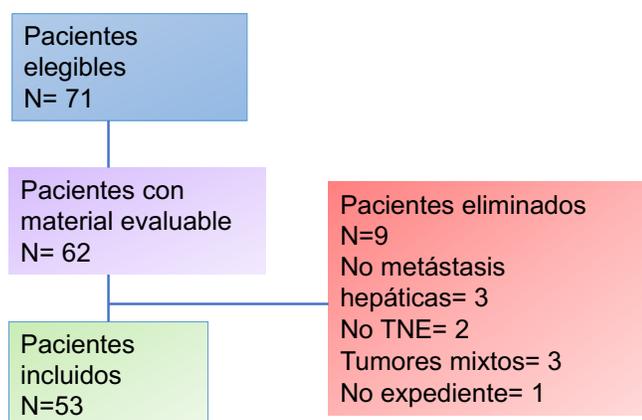
- Patrocinador: Fondo departamental de apoyo a la investigación/Apoyo a tesis de residente del departamento de patología del INCMNSZ.

**Factibilidad:**

El protocolo de investigación se considera factible, se cuenta con la población necesaria, y el personal médico calificado para la evaluación histológica y de inmunohistoquímica de tumores neuroendocrinos.

## 9 RESULTADOS

Para el presente estudio, se ingresaron un total de 71 casos de pacientes con TNE metastásico en hígado durante el periodo 2000 a 2020, de los cuales, solamente se encontró material de 62 casos, se incluyeron aquellos que tuvieran material suficiente para la evaluación histopatológica apropiada, así como los que tuvieran un adecuado seguimiento clínico, además de los criterios de inclusión y exclusión. De ellos, se eliminó un caso con diagnóstico de tumor neuroectodérmico primitivo, uno con diagnóstico de paraganglioma, tres casos por tratarse de tumores mixtos (adenocarcinoma con TNE), tres casos por no tener metástasis hepáticas, y otro por no tener notas en el expediente, por lo cual quedó un total de 53 casos (Figura 1).

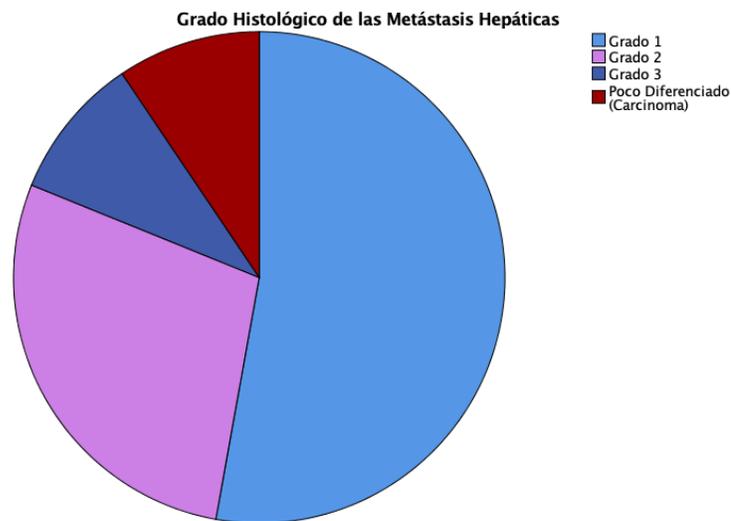


**Figura 1.** Diagrama CONSORT

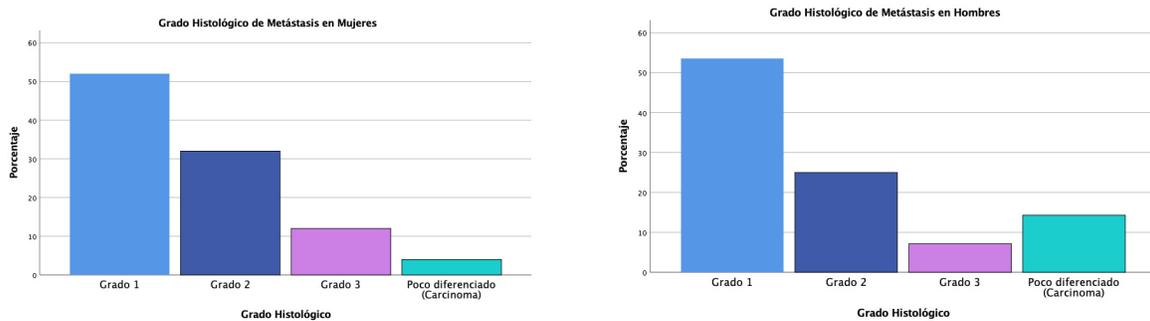
De los 53 pacientes incluidos, 47.2% fueron mujeres y 52.8% fueron hombres. La mediana de edad al diagnóstico fue de 54 años (rango 22-81 años) con una desviación estándar de 15.449. La mediana de edad en mujeres fue de 51 años, y de hombres 57 años.

El 90.6% de los tumores evaluados fueron bien diferenciados con 9.5% de poco diferenciados. El grado histológico se otorgó ya sea por índice de proliferación Ki-67 o por conteo de mitosis (Imagen 2), predominando el G1 con un 52.8% de los

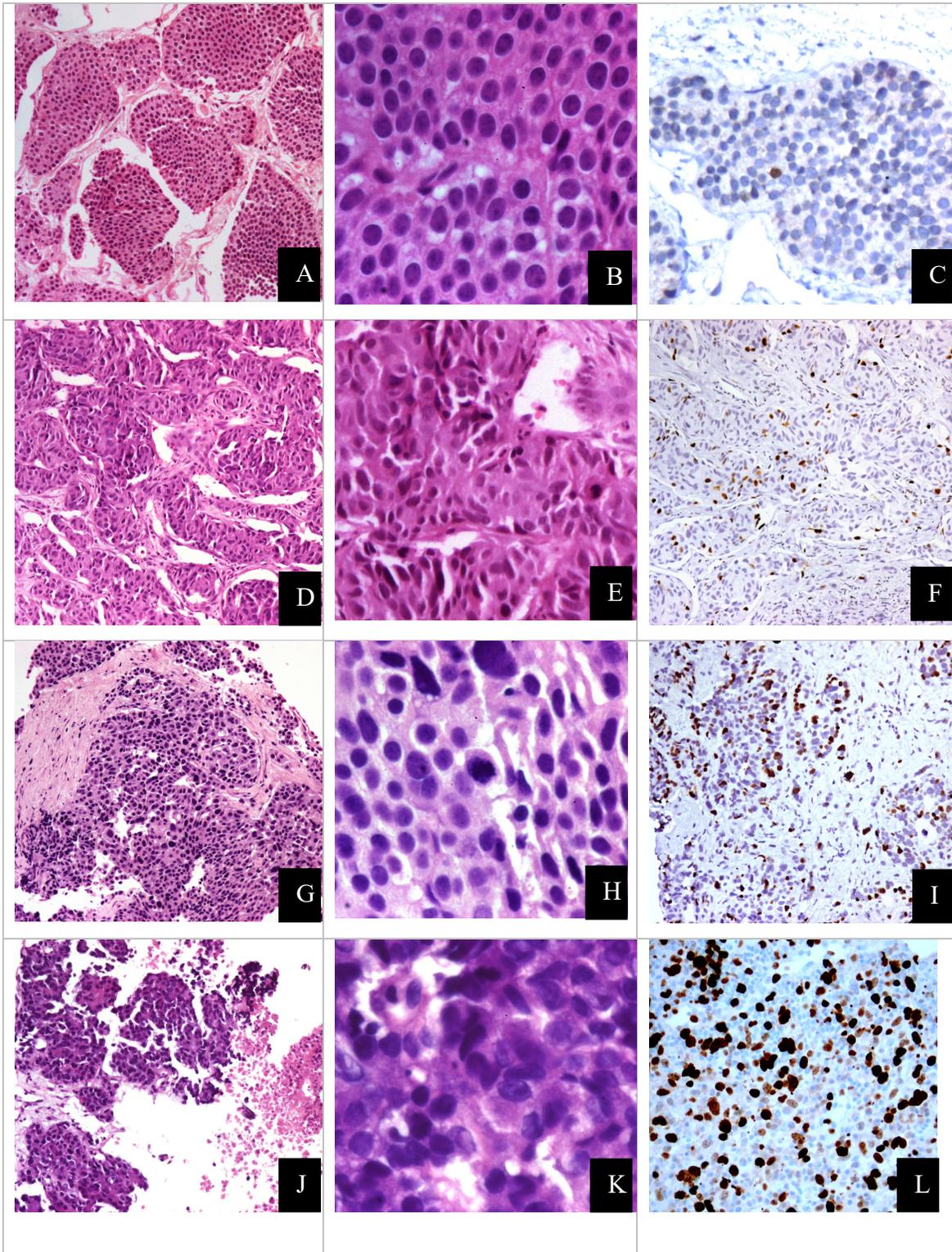
tejidos hepáticos evaluados, seguido de G2 que correspondió a 28.3%, 9.4% y 9.4% para G3 y TNE poco diferenciado (carcinoma de células pequeñas y células grandes) respectivamente (Figura 2). La mayor proporción de los TNE poco diferenciados fue en hombres con un 7.5% en contraste con las mujeres con un 1.9%. En cuanto al resto de los grados no hubo diferencias significativas por sexo (Figura 3).



**Figura 2.** Distribución del grado histológico de las metástasis hepáticas.



**Figura 3.** Grados histológicos por género



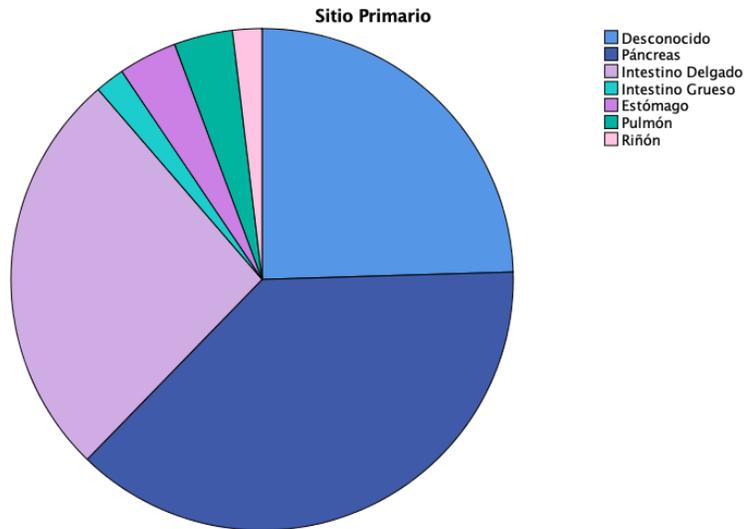
**Imagen 2. TNE G1:** A. (H&E, 10x) Patrón de crecimiento organoide, con células de B. (H&E, 60x) núcleos redondos uniformes, cromatina fina, citoplasma moderado, no se observan mitosis. C. (Inmunoperoxidasa Ki-67 40x), marca una célula positiva, con un índice de proliferación del 1%. **TNE G2.** D. (H&E 10x) Patrón de crecimiento trabecular, con septos fibrosos separando las trabéculas conformadas por células, E. (H&E 20x) con leve irregularidad en sus núcleos, redondos a ovales, citoplasma moderado, se observa la presencia de mitosis. F. (Inmunoperoxidasa Ki-67 10x) índice de proliferación de 15%. **TNE G3.** G. (H&E 10x) patrón de crecimiento en nidos sólidos con H. (H&E 60x) variación en la forma y tamaño de las células, con cierto pleomorfismo y mitosis. I. (Inmunoperoxidasa Ki-67 20x) índice de proliferación de 60%. **TNE poco diferenciado:**

J. (H&E 10x) patrón de crecimiento sólido, fragmentado acompañado de necrosis y K. (H&E 60x) células con núcleos hipercromáticos, irregulares, escaso a moderado citoplasma y mitosis. L. (Inmunoperoxidasa Ki-67 40x) índice de proliferación del 65%.

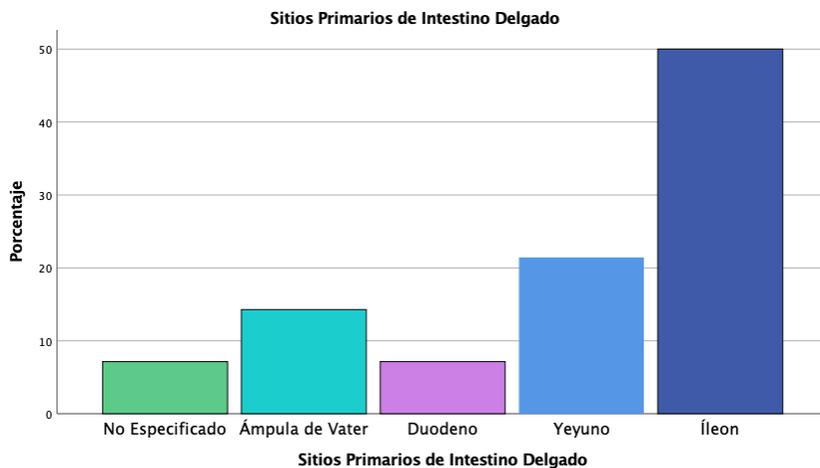
De acuerdo con su sitio primario el 37.7% derivó de páncreas, 26.4% de intestino delgado, 3.8% de estómago y pulmón, 1.9% de recto y riñón, con un 24% de origen desconocido (Tabla 2, Figura 4). En cuanto a la localización en páncreas, se confinaron en cabeza y cola por igual, con un 50% de los casos no especificado. Del total, en lo que respecta a intestino delgado, 1.9% en duodeno, 3.8% en ámpula de váter, 5.7% en yeyuno y su mayoría en íleon con un 13.2% (Figura 5). En algunas -7- muestras se realizó la reacción de inmunohistoquímica para la proteína homebox (CDX2) que es un factor de transcripción que se expresa en células epiteliales intestinales, donde fue positiva en 6 casos, correlacionando con origen en intestino delgado solo en 2 casos; la explicación de esto es que no se realizó en todos los tejidos y en algunos de ellos donde fue positivo, su origen fue de primario desconocido, por lo cual fue imposible la correlación. Otro elemento que nos puede orientar en lo que respecta al sitio primario, es el patrón de nidos sólidos o con formaciones pseudoglandulares con empalizada periférica, ya que la mayoría de los tumores que presentaron esta morfología correspondieron a íleon como sitio de origen.

SITIO PRIMARIO	FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE ACUMULADO
Desconocido	13	24.5	24.5
Páncreas	20	37.7	62.3
Intestino Delgado	14	26.4	88.7
Intestino Grueso	1	1.9	90.6
Estómago	2	3.8	94.3
Pulmón	2	3.8	98.1
Riñón	1	1.9	100.0
Total	53	100	

**Tabla 2.** Sitio primario de la metástasis hepática.



**Figura 4.** Sitio primario de la metástasis hepática.



**Figura 5.** Sitios primarios de intestino delgado.

En cuanto a los grados histológicos de la metástasis hepática con sitio primario en páncreas, 15.1% fueron grado 1, 13.2% grado 2, 5.7% grado 3 y 3.8% poco diferenciado. Los que correspondieron a intestino delgado 22.6% fueron grado 1, 1.9% grado 2 y 1.9% grado 3, sin encontrarse TNE poco diferenciados. Todos los de yeyuno e íleon fueron grado 1, un caso grado 2 correspondió a sitio primario de duodeno y un grado 3 de ámpula de Váter. Los dos casos con origen en estómago fueron grado 2, el de recto fue grado 1, riñón grado 1, pulmón grado 1 y

carcinoma de células pequeñas. De este modo, los TNE poco diferenciados fueron provenientes de páncreas, pulmón y sitio desconocido (Tabla 3).

		Grado Histológico metástasis				Total
		Grado 1	Grado 2	Grado 3	Poco diferenciado	
SITIO PRIMARIO	Desconocido	6	4	1	2	13
	Páncreas	8	7	3	2	20
	Intestino delgado	12	1	1	0	14
	Intestino grueso	1	0	0	0	1
	Estómago	0	2	0	0	2
	Pulmón	1	0	0	1	2
	Riñón	0	1	0	0	1
	Total	28	15	5	5	53

**Tabla 3.** Grado histológico de la metástasis en relación con su sitio primario

Se obtuvo material del tumor primario en 26 casos (49.1%), encontrando un 65.4% de grado 1, 23.1% grado 2 y 11.5% grado 3 (Tabla 4). De ellos hubo concordancia entre los grados de la metástasis y los grados histológicos del primario en 21 casos. Por otro lado, se identificó progresión en el tumor metastásico en 2 casos: de grado 1 a grado 2 en tumor de riñón y de grado 1 a carcinoma en tumor de páncreas. En cambio, en 3 casos sucedió lo contrario, ya que hubo una gradificación menor (Tabla 5).

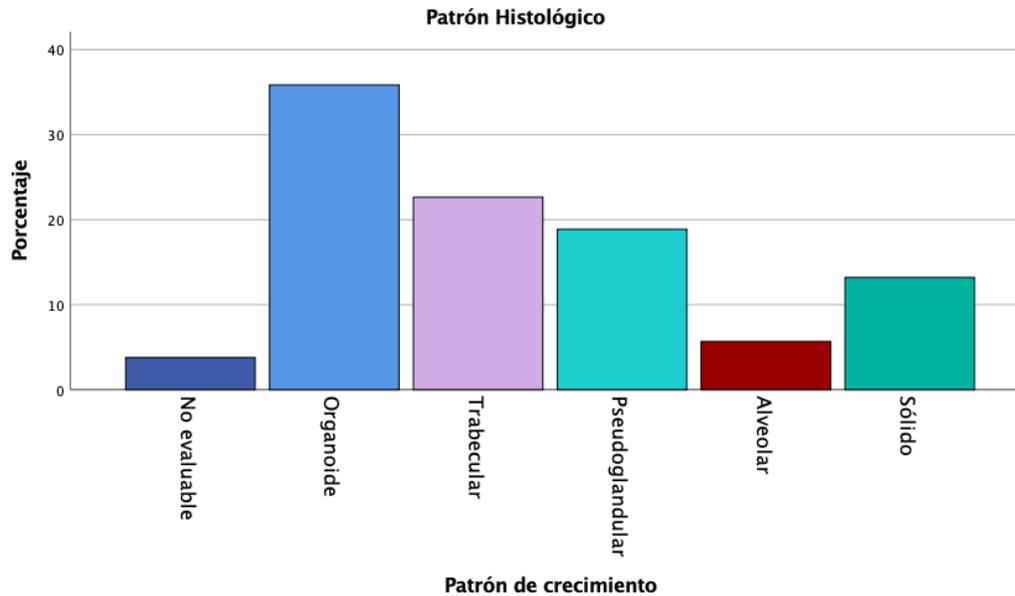
Grado Histológico Primario	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje Acumulado
Grado 1	17	32.1	65.4	65.4
Grado 2	6	11.3	23.1	88.5
Grado 3	3	5.7	11.5	100.0
Total	26	49.1	100.0	
Sin material	27	50.9		
Total	53	100		

**Tabla 4.** Grado histológico de los tumores primarios analizados

		GRADO HISTOLÓGICO METÁSTASIS				Total
		Grado 1	Grado 2	Grado 3	Poco diferenciado	
GRADO HISTOLÓGICO SITIO PRIMARIO	Grado 1	10	5	1	1	17
	Grado 2	1	4	1	0	6
	Grado 3	1	1	0	1	3
	Total	12	10	2	2	26

**Tabla 5.** Comparación de grados histológicos dados en metástasis hepática y sitio primario

En cuanto a los patrones histológicos, cabe mencionar que generalmente se presentan entremezclados, sin embargo, se aprecia un patrón dominante que fueron aquellos que se documentaron (Figura 6); el que se demostró con mayor frecuencia fue el organoide con un 35.8% presente en su mayoría en los tumores grado 1 y grado 2; el siguiente es el trabecular con un 22.6%, exhibiéndose mayormente en los grado 1, y en menor frecuencia en los grado 2 y 3; le siguió el pseudoglandular en un 18.9% presentándose en 6 casos de grado 1, 2 casos de grado 2 y 1 caso de grado 3 y por ultimo el patrón alveolar presentándose en un 5.7%. Cabe destacar que el patrón sólido presente en un 13.2% predominó en los TNE poco diferenciados (4 casos), aunque también se presentó en grado 2 y grado 3 (Tabla 6).

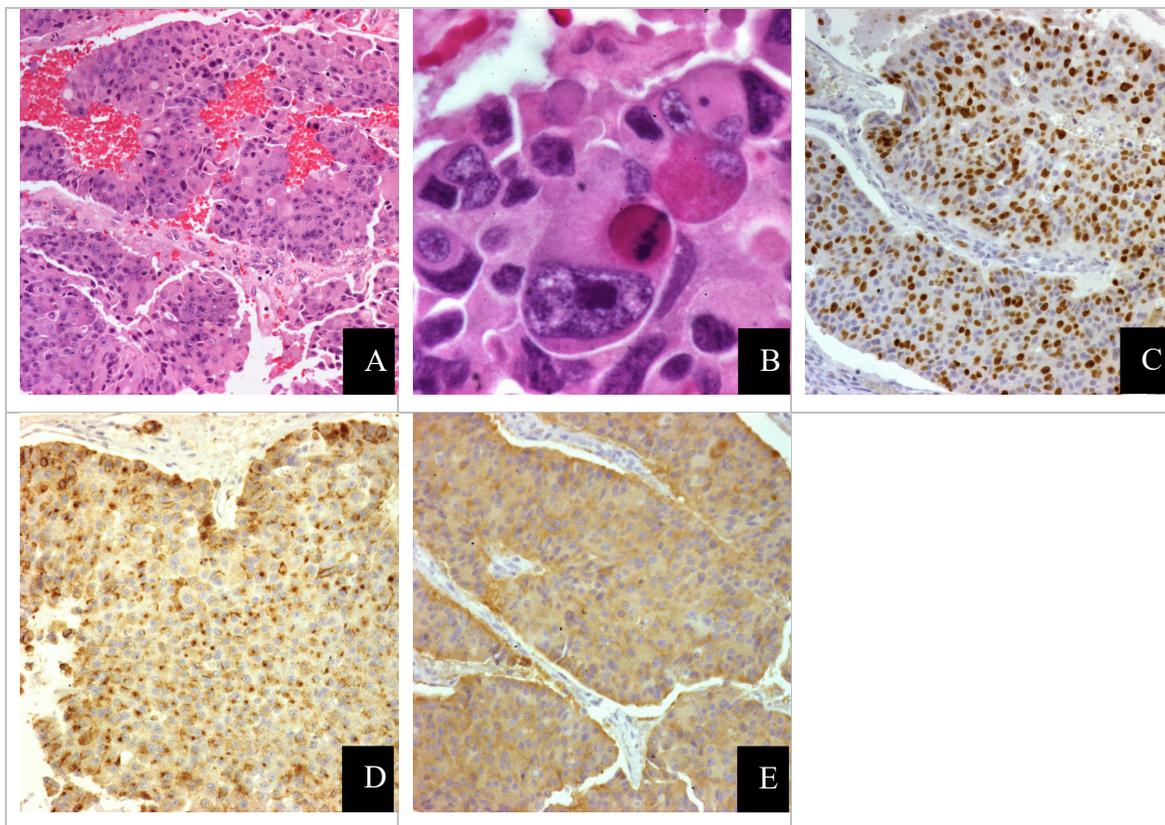


**Figura 6.** Patrón de crecimiento histológico dominante.

Patrón	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Poco Diferenciado	Total
No evaluable	1	0	1	0	2
Organoide	10	8	1	0	19
Trabecular	8	3	1	0	12
Pseudoglandular	6	2	1	1	10
Alveolar	3	0	0	0	3
Sólido	0	2	1	4	7
Total	28	15	5	5	53

**Tabla 6.** Patrón de crecimiento histológico en relación con el grado histológico

Algunos elementos histológicos de mal pronóstico que fueron observados fue el alto grado nuclear, la necrosis y la apoptosis, los cuales se mostraron ausentes en la mayoría de los casos 54.7%, 73.6% y 69.8% respectivamente. Estos se presentaron de manera escasa en los TNE bien diferenciados (Imagen 3) y en la mayoría de los pocos diferenciados (Tabla 7, 8, 9). Al conjuntarse la presencia de uno o más criterios se observaba que entre más de estos se exhibían era mayor el grado histológico (Tabla 10).



**Imagen 3. A.** (H&E, 10x) TNE G3 de páncreas con patrón de crecimiento organoide y nidos sólidos grandes, compuestos por células de tamaño grande, núcleos pleomorfos, algunos hiper cromáticos y citoplasma amplio eosinófilo, áreas hemorrágicas. **B.** (H&E, 60%) Algunos núcleos con marcada anaplasia, nucléolo prominente y presencia de figuras apoptóticas. **C.** (inmunoperoxidasa 10x) porcentaje de Ki-67 de 70%, con **D.** (inmunohistoquímica 10x) cromogranina y **E.** (inmunohistoquímica 10x) sinaptofisina positivos.

Pleomorfismo	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Poco Diferenciado	Total
Ausente	21	7	1	0	29
Focal	7	4	1	0	12
Algunos focos	0	2	1	0	3
Difuso	0	2	2	5	9
Total	28	15	5	5	53

**Tabla 7.** Presencia de alto grado nuclear según el grado histológico.

<b>Necrosis</b>	<b>Grado 1</b>	<b>Grado 2</b>	<b>Grado 3</b>	<b>Poco Diferenciado</b>	<b>Total</b>
Ausente	26	10	2	1	39
Focal	1	2	1	0	4
5%	1	1	0	0	2
10%	0	1	1	0	2
>20% o extensa	0	1	1	4	6
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>53</b>

**Tabla 8.** Presencia de necrosis según el grado histológico.

<b>Apoptosis</b>	<b>Grado 1</b>	<b>Grado 2</b>	<b>Grado 3</b>	<b>Poco Diferenciado</b>	<b>Total</b>
Ausente	26	8	3	0	39
Presente	2	7	2	5	6
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>53</b>

**Tabla 9.** Presencia de apoptosis según el grado histológico.

<b>Patrón sólido, pleomorfismo, necrosis, apoptosis</b>	<b>Grado 1</b>	<b>Grado 2</b>	<b>Grado 3</b>	<b>Poco Diferenciado</b>	<b>Total</b>
Ausente	17	3	0	0	20
1 componente	10	5	1	0	16
2 componentes	1	4	2	0	7
3 componentes	0	3	1	2	6
4 componentes	0	0	1	3	4
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>53</b>

**Tabla 10.** Criterios histológicos de malignidad según el grado histológico.

En el análisis histológico no hubo concordancia al 100% entre el número de mitosis y el índice de proliferación de Ki-67. Si se hubiera dado el grado únicamente por el conteo de mitosis por H&E, se habrían elevado los casos de grado 1 con un 64.2%, y grado 2 con 32.1%, disminuyendo los grados 3 con un 3.8% y habrían desaparecido los poco diferenciados sin tomar en cuenta otros criterios morfológicos de malignidad (Tabla 11). El promedio de mitosis del grado 1 fue menos de 1 mitosis por mm<sup>2</sup>, del grado 2 de 3.4 mitosis por mm<sup>2</sup> (rango 0-20), grado 3 de 4 mitosis por mm<sup>2</sup> (rango 0-10) y de los TNE poco diferenciados de 15.6 mitosis por mm<sup>2</sup> (rango 4-30). En lo que concierne al Ki-67, no en todos los tejidos fue posible realizarse (11.3%) por lo que el grado se dio por número de mitosis y características histológicas. Si solamente se hubiera evaluado el Ki-67 habrían disminuido los G1 con un 35.8%, aumentado los grado 2 34% y grado 3 18.9% (Tabla 12). La media de Ki-67 en los tumores grado 1 fue de 1.54%, grado 2 de 8.73% (rango 3-20%), grado 3 37% (rango 25-60%) y de los poco diferenciados 76.25% (rango 70-85%). Al observar esta situación, decidimos realizar la técnica de inmunohistoquímica Fosfohistona H3 para la detección de figuras mitóticas (en dos casos), lo cual no fue de gran ayuda para nuestra evaluación, ya que no hubo diferencias significativas con el conteo manual de mitosis por H&E y el uso de este anticuerpo.

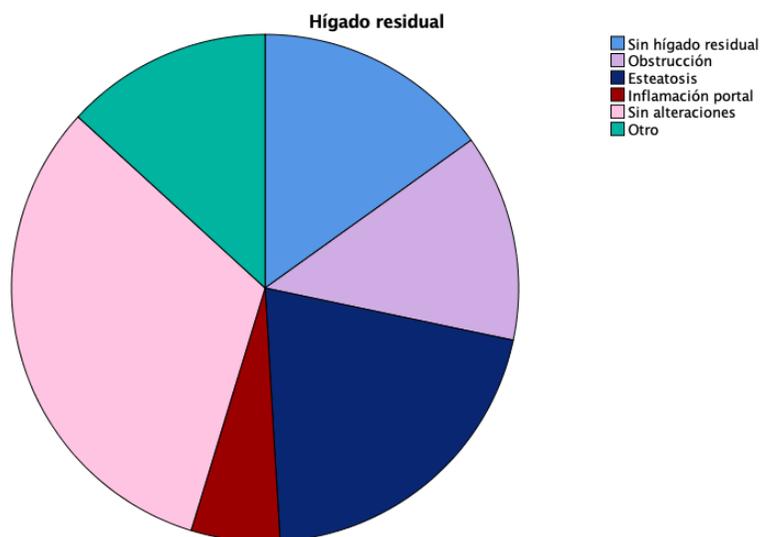
<b>Grado histológico por mitosis</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Porcentaje acumulado</b>
Grado 1	34	64.2	64.2
Grado 2	17	32.1	96.2
Grado 3	2	3.8	100.0
Total	53	100.0	

**Tabla 11.** Gradificación histológica dada únicamente por conteo de mitosis.

Grado histológico por Ki-67	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
No realizado	6	11.3	11.3
Grado 1	19	35.8	47.2
Grado 2	18	34.0	81.1
Grado 3	10	18.9	100.0
Total	53	100.0	

**Tabla 12.** Gradificación histológica dada únicamente por índice de Ki-67.

Sobre el tejido hepático residual, se encontró que la mayoría estaba sin alteraciones (32.1%), se encontró esteatosis en un 20.8%, patrón obstructivo con colestasis en un 13.2%, e inflamación portal en 5.7%, otros cambios que se encontraron fueron colapso, fibrosis, congestión, reacción ductular y amiloidosis globular en un caso (Figura 7). Estos cambios no tuvieron impacto significativo en la supervivencia.



**Figura 7.** Cambios encontrados en tejido hepático residual.

De todos los casos estudiados el 84.9% se diagnosticó con metástasis hepáticas al momento de la presentación colocándose en un estadio IV de entrada. En cuanto a la localización de las metástasis hepáticas, la mayoría se localizaron en ambos lóbulos (85.7%), siendo múltiples o difusas. Solo en 40 casos se especificó el tamaño del depósito mayor de metástasis donde la mediana fue de 7.9 cm, siendo el más pequeño 1 cm y el mayor 24 cm. Los sitios más frecuentes de actividad extrahepática fueron ganglios linfáticos regionales 33.3%, peritoneo 11.1% y hueso 11.1%, un caso con metástasis a glándula suprarrenal 1.9%, el resto solo se confinaron al hígado 40.7%.

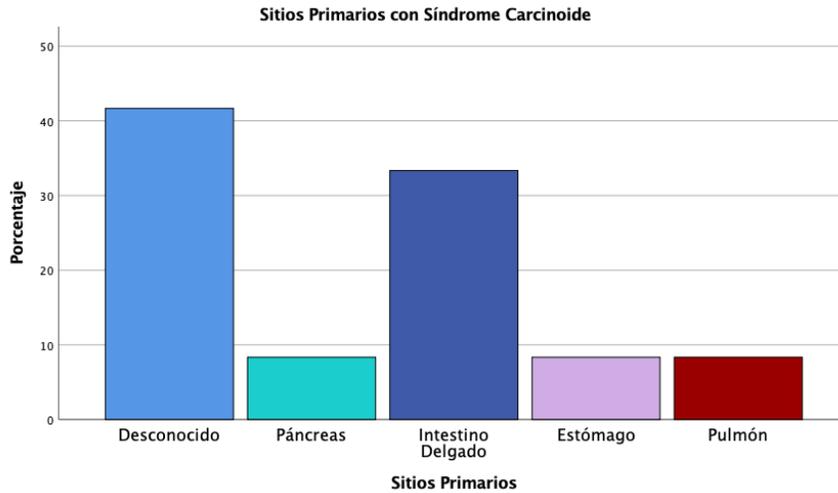
En lo que atañe al estado funcional, 58.5% fueron no funcionales y 41.5 % funcionales, de los cuales la mayoría tuvo su origen en páncreas (31.8%) y sitio primario desconocido (31.8%), seguido de intestino delgado (27.3% -íleon y yeyuno-) (Tabla 13). A 67.9% se le hizo medición de Cromogranina A en suero donde los niveles no correlacionaron con síndrome carcinoide o gravedad de la enfermedad, sin embargo, fue buen marcador como respuesta al tratamiento o progresión de la enfermedad. El síndrome carcinoide se presentó en el 22.6% de los pacientes, de los cuales 66.7% correspondió a TNE grado 1 (Tabla 14); 33.3% con origen en intestino delgado y 41.7% de sitio primario desconocido (Figura 8). De ellos el 41.66% desarrollaron insuficiencia cardiaca secundaria. No se encontró clara relación entre la presencia de síndrome carcinoide con el volumen del tumor en el hígado, no obstante, los depósitos fueron múltiples o difusos en la mayoría de estos casos.

	Funcionalidad del Tumor			
	No funcional	Funcional	Total	
Sitio primario	Desconocido	6	7	13
	Páncreas	13	7	20
	Intestino Delgado	8	6	14
	Intestino Grueso	1	0	1
	Estómago	1	1	2
	Pulmón	1	1	2
	Riñón	1	0	1
	Total	31	22	53

**Tabla 13.** TNE funcionales y no funcionales de acuerdo con localización del sitio primario.

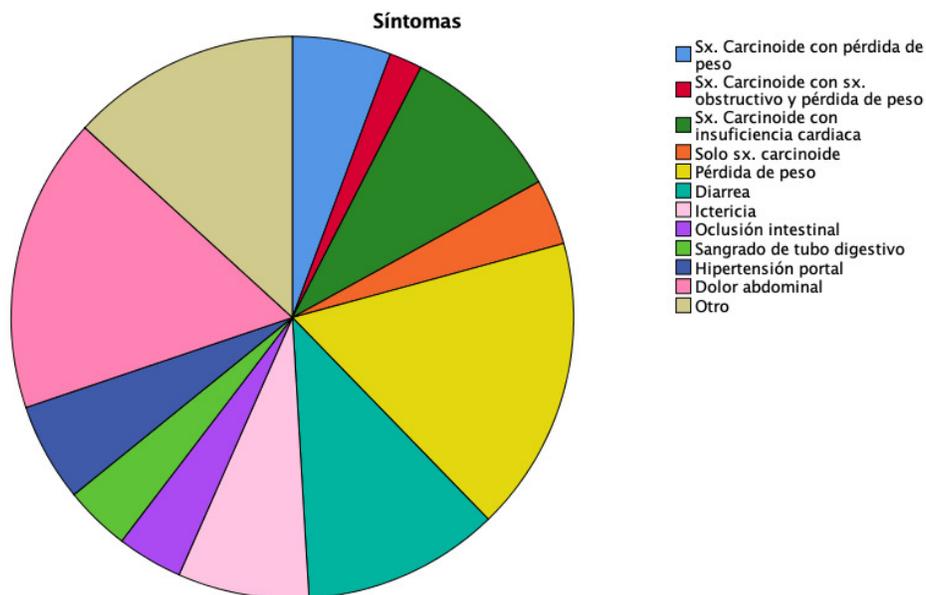
Grado Histológico	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje Acumulado
Grado 1	8	15.1	66.7	66.7
Grado 2	3	5.7	25.0	91.7
Grado 3	1	1.9	8.3	100.0
Total	12	22.6	100.0	
Sin carcinoide	41	77.4		
Total	53	100.0		

**Tabla 14.** Presentación del síndrome carcinoide en relación con el grado histológico de la metástasis.



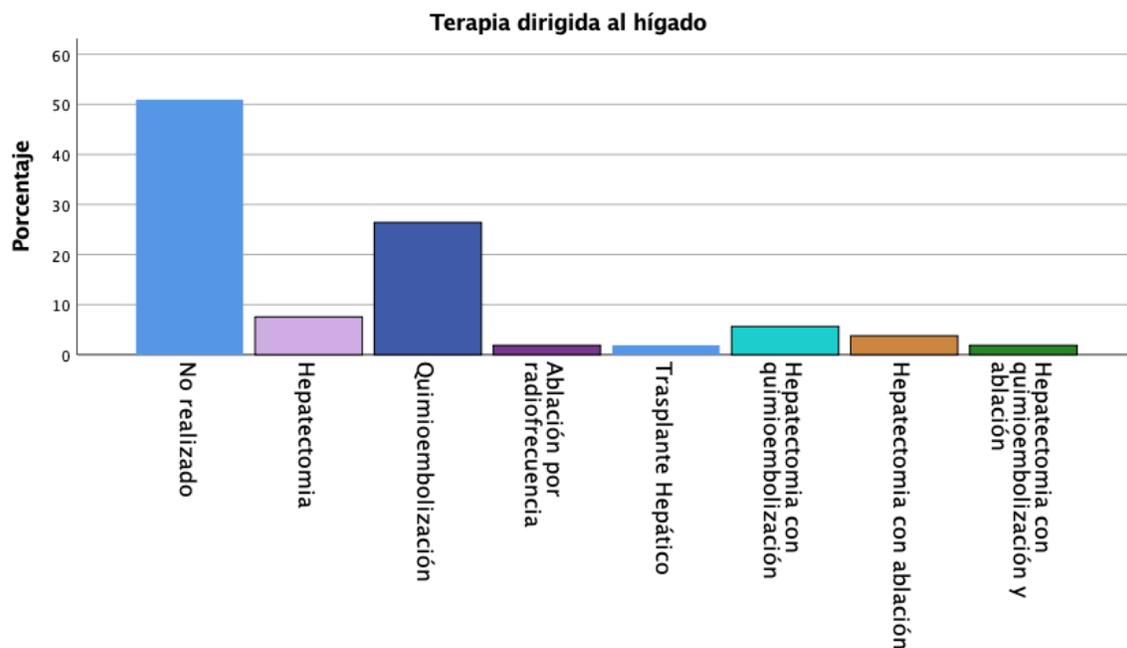
**Figura 8.** Presentación del síndrome carcinoide de acuerdo con el sitio primario.

Distintos síntomas que se encontraron relacionados a la localización o extensión de la enfermedad fueron: pérdida de peso (17%), dolor abdominal (17%), diarrea (11.3%), ictericia (7.5%), hipertensión portal (5.7%), sangrado de tubo digestivo y oclusión intestinal (3.8%) entre otros (Figura 9).

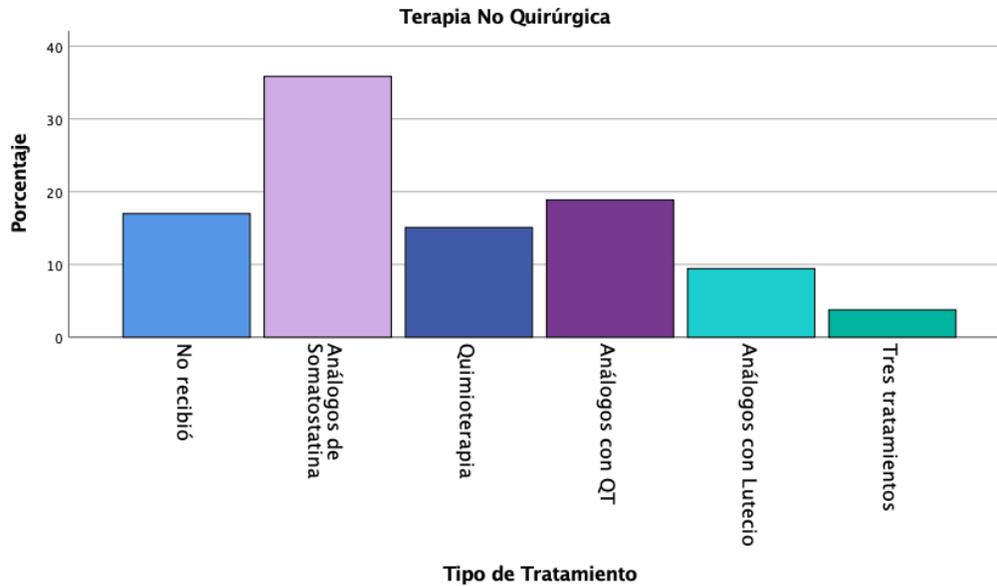


**Figura 9.** Síntomas presentados.

El 90.6% de los pacientes recibió algún tipo de tratamiento ya sea quirúrgico o sistémico. De ellos el 39.6% tuvo tratamiento quirúrgico con resección del tumor primario, 49.1% tuvo algún tipo de terapia dirigida al hígado donde el 26.4% tuvo quimioembolización transarterial, 7.5% hepatectomía, 5.7% hepatectomía con quimioembolización, 3.8% hepatectomía con ablación por radiofrecuencia, 1.9% solo ablación por radiofrecuencia, 1.9% recibió los tres tratamientos y un trasplante hepático (1.9%) (Figura 10). En lo que respecta al tratamiento sistémico el 35.8% recibió solo análogos de somatostatina (AS), 18.9% análogos de somatostatina con quimioterapia, 15.1% solo quimioterapia, 9.4% AS con Lutecio 177 y 3.8% los tres tipos de tratamiento, algunos de ellos con intención paliativa (Figura 11).



**Figura 10.** Tipo de intervención dirigida a las metástasis hepáticas.



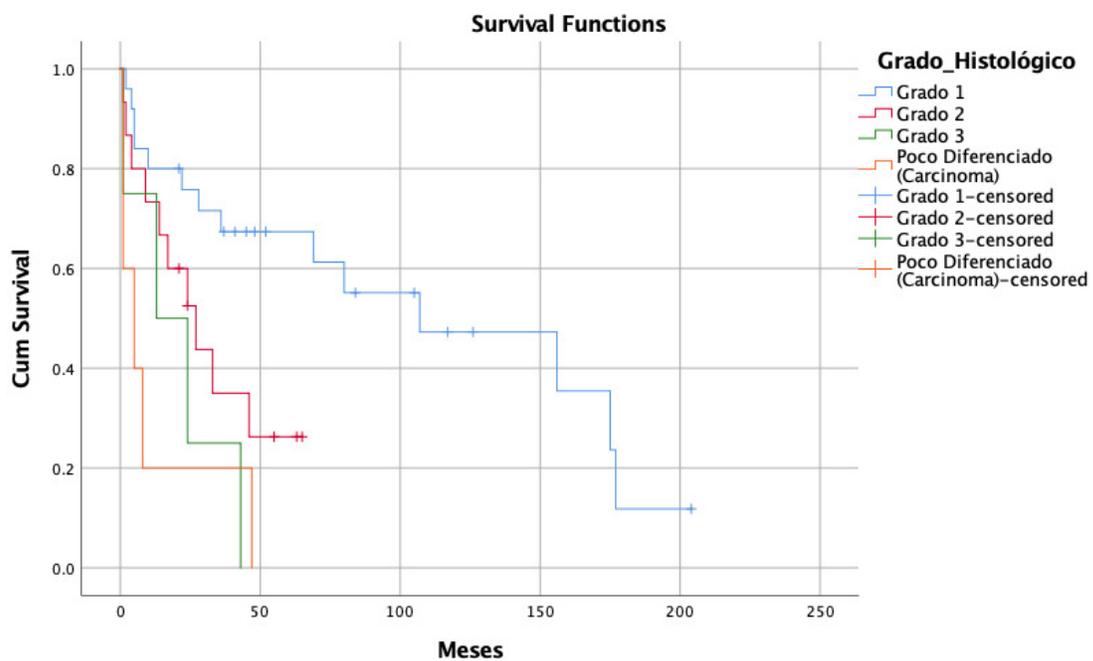
**Figura 11.** Tipos de tratamiento sistémico recibidos.

En el último rastreo se encontraron 36 pacientes muertos (64.3%) y 4 con pérdida del seguimiento clínico (Tabla 15). La mediana de supervivencia global fue de 47.02 meses (1-204 meses), con una desviación estándar de 51.095. Mediante análisis univariado y multivariado, con un intervalo de confianza de 95%, la supervivencia global fue significativamente mejor para pacientes con grado histológico 1/2 dado en la metástasis hepática (P .000), sin criterios morfológicos de malignidad (P .000) especialmente sin patrón sólido (P .006), pleomorfismo (P .012), apoptosis (P .036), necrosis (P .003). No fue significativo cuando se tiene el primario conocido (P .072), a pesar de que la media de supervivencia de sitio primario desconocido fue de 10.4 meses. La mediana de supervivencia para los TNE grado 1 fue de 70.24 meses, grado 2 de 27 meses, grado 3 de 20.25 meses y poco diferenciados de 12.4 meses. Se observó mayor riesgo de mortalidad cuando hay presencia de metástasis hepáticas al diagnóstico (P .003) y no intervención quirúrgica para la resección del tumor primario (P .000). Hay mejor supervivencia cuando se recibe algún tipo de tratamiento ya sea quirúrgico o sistémico (P.000), sin haber diferencia significativa entre si se recibe tratamiento dirigido al hígado o terapia sistémica (P .823). Cuando ya se tienen metástasis hepáticas, la presencia de síndrome carcinoide por sí solo no aumenta la mortalidad (P .874), ni tampoco

tienen mejor sobrevida aquellos que tienen tumores funcionales (P .234). En las figuras 12-22 se presenta la distribución de la supervivencia de acuerdo con los datos mencionados.

Vivo con enfermedad	Vivo sin enfermedad	Muerto con enfermedad	Muerto sin enfermedad
12 pacientes	4 pacientes	32 pacientes	1 pacientes

**Tabla 15.** Distribución de supervivencia.



**Figura 12.** Duración de supervivencia por grado histológico.

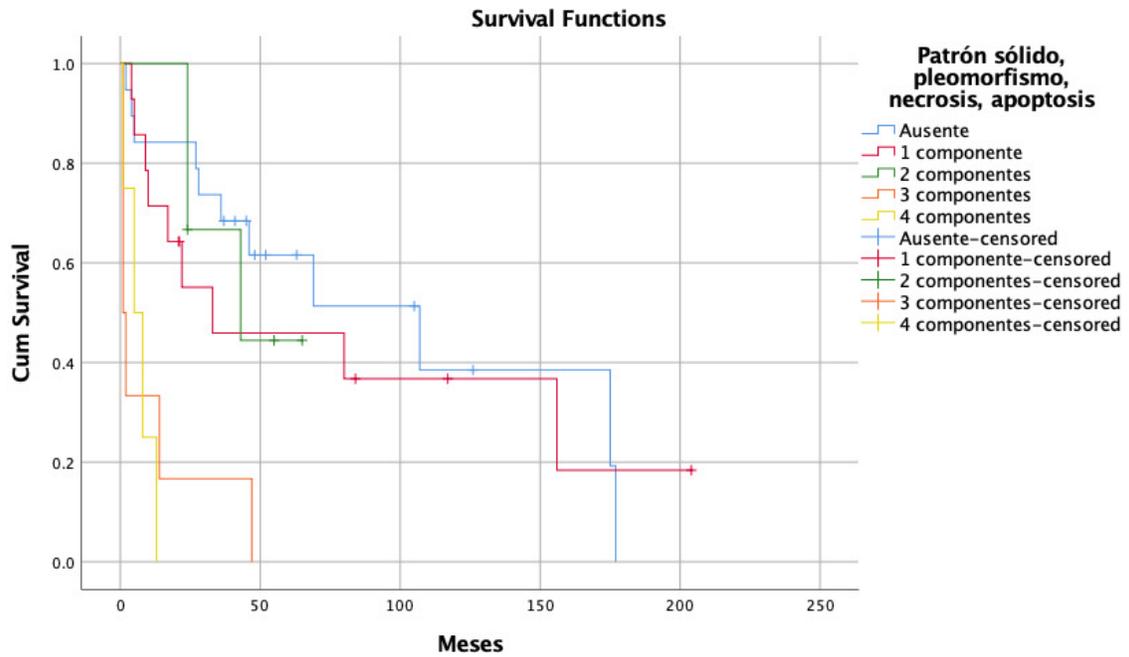


Figura 13. Duración de supervivencia por criterios morfológicos de malignidad.

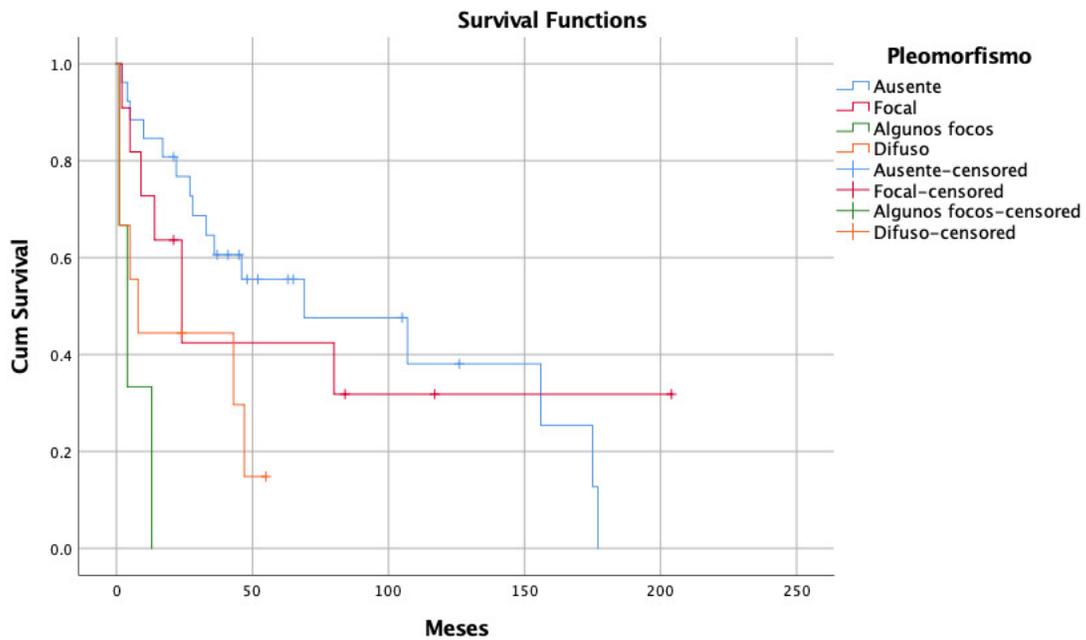
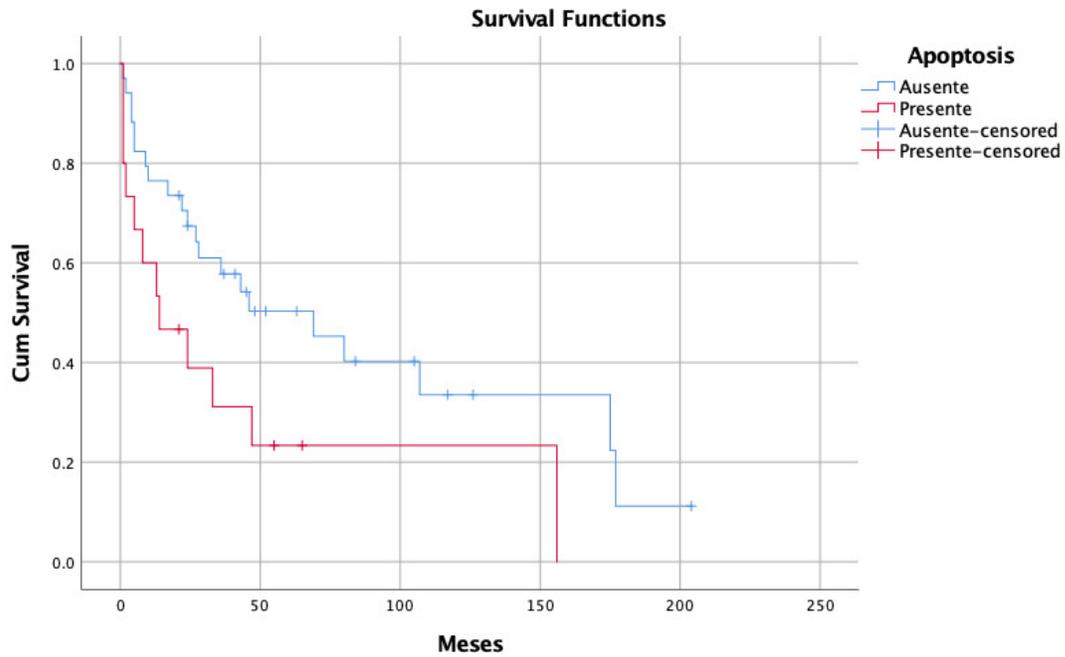
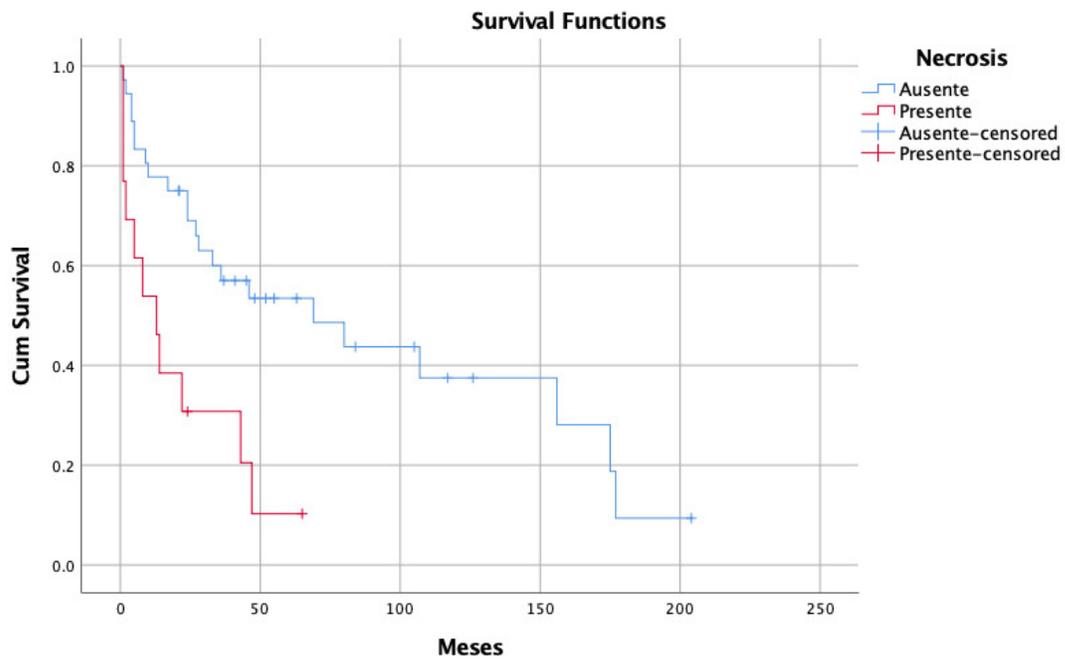


Figura 14. Duración de supervivencia por presencia de pleomorfismo.



**Figura 15.** Duración de supervivencia por presencia de apoptosis.



**Figura 16.** Duración de supervivencia por presencia de necrosis.

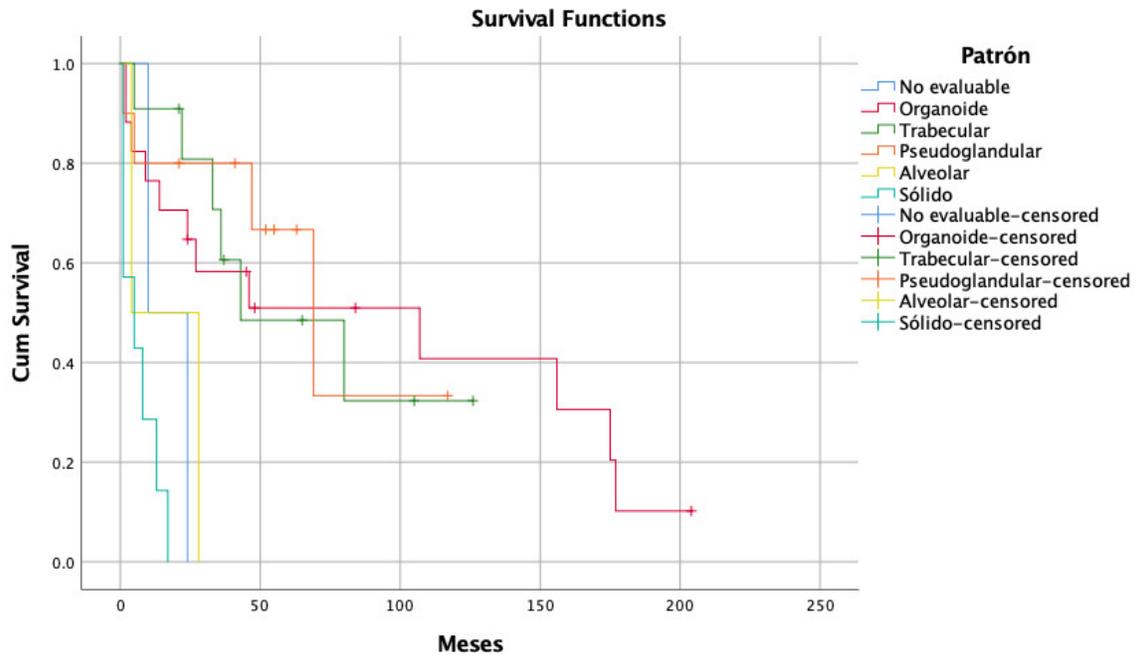


Figura 17. Duración de supervivencia por patrón de crecimiento histológico.

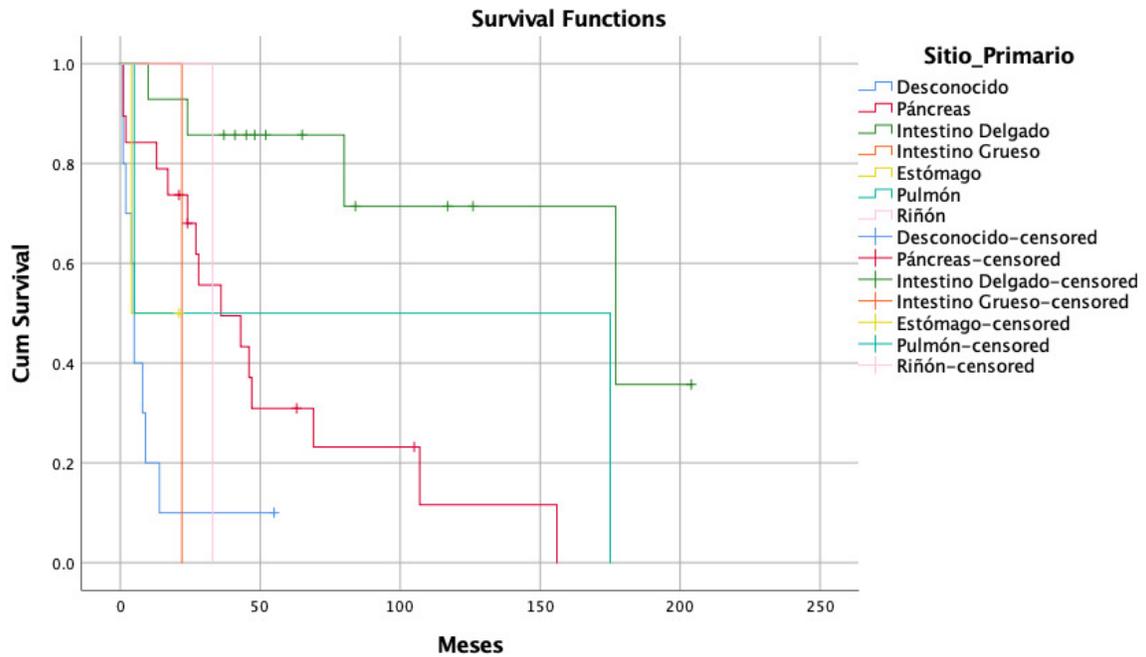


Figura 18. Duración de la supervivencia por sitio primario.

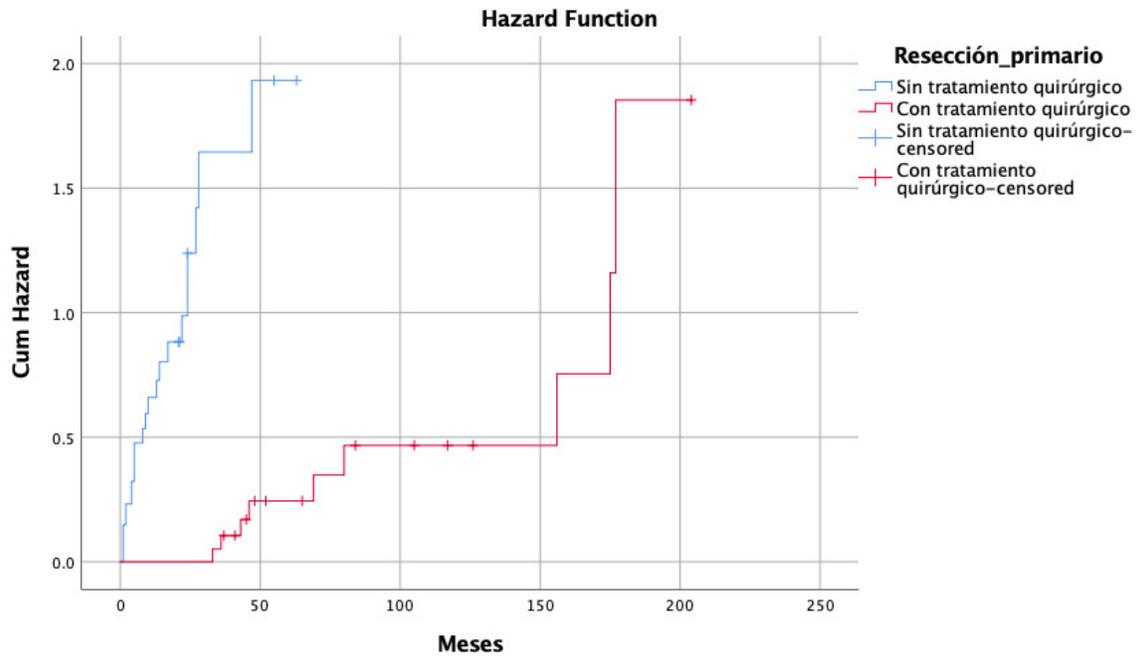


Figura 19. Riesgo de mortalidad por tratamiento quirúrgico.

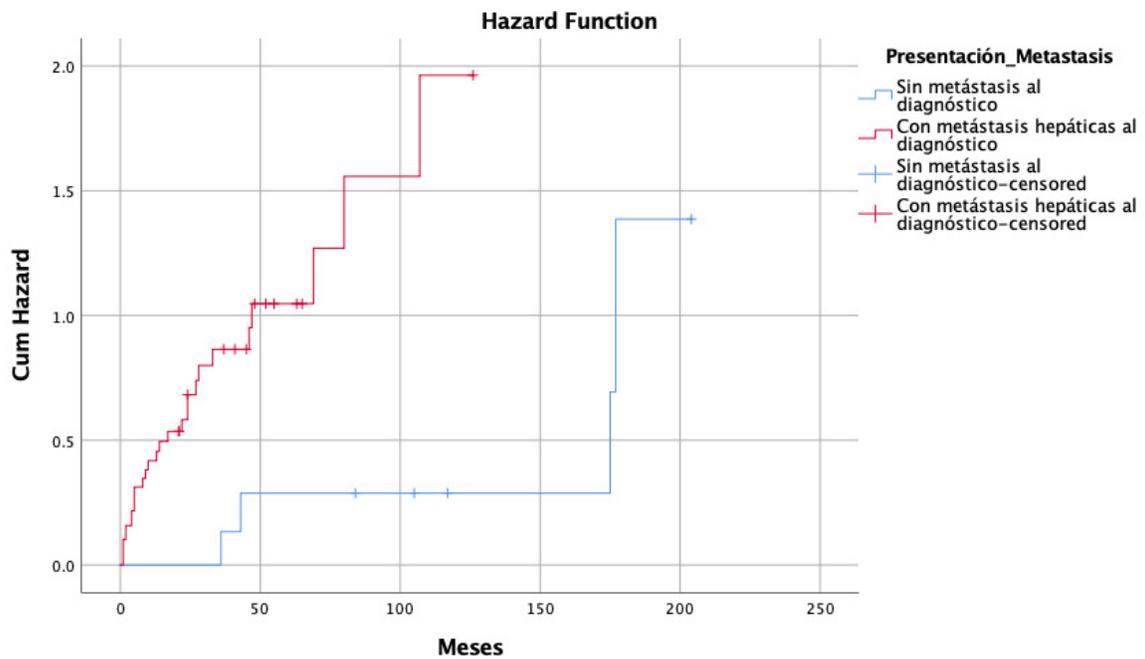
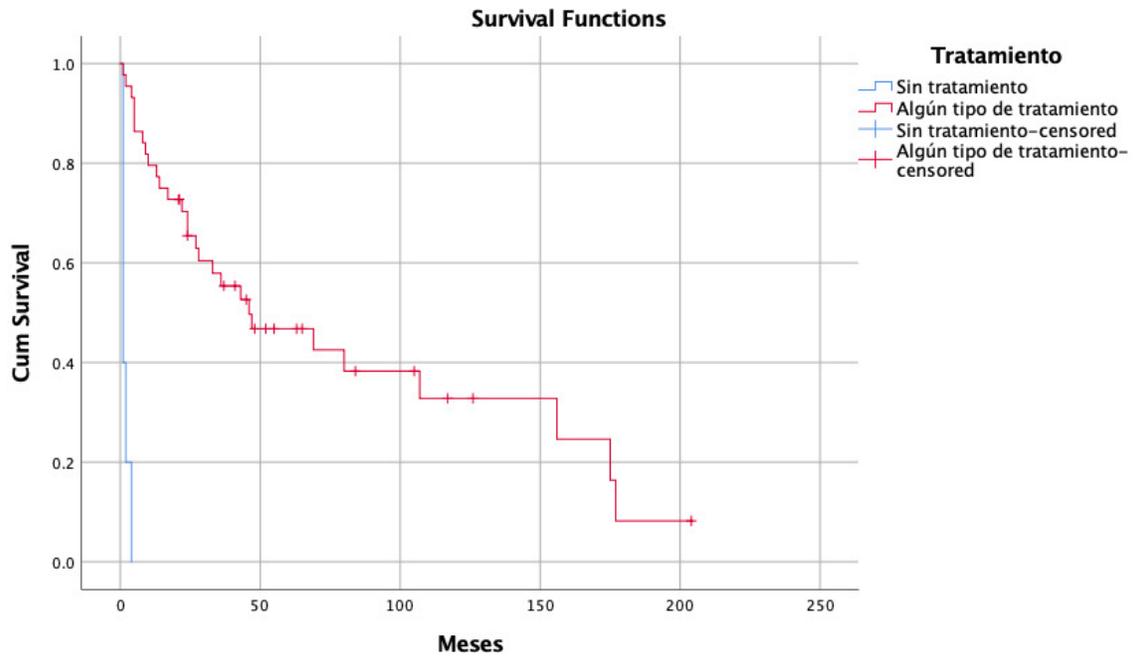
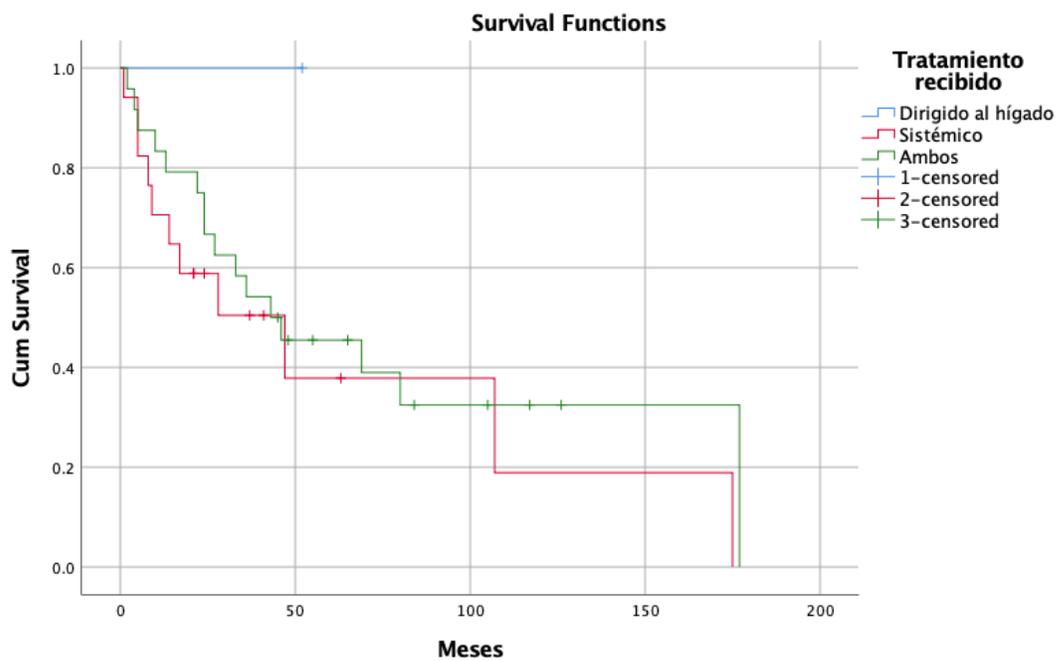


Figura 20. Riesgo de mortalidad al momento de la presentación.



**Figura 21.** Duración de la supervivencia por recibir tratamiento.



**Figura 22.** Duración de la supervivencia por tipo de tratamiento.

## 10 DISCUSIÓN

En lo que concierne a la presentación según edad y género, en nuestro estudio la mayoría se presentó en hombres, lo que coincide con la variabilidad de otros estudios, donde en unos hay predominancia en mujeres y otros en hombres (2, 4, 5). Con lo que se ha mencionado en trabajos mexicanos también estos datos han sido inconstantes (8, 9,11), pero lo que sí podemos afirmar es que son porcentajes muy acercados a la mitad de las muestras, siendo una repartición cercana al 1:1. En cuanto a la distribución de la edad es similar a lo reportado, siendo más frecuente en la sexta década de la vida.

En nuestro estudio, al igual que la literatura encontramos que los TNE-GEP son los más comunes, no obstante, al estudiar una muestra únicamente de TNE metastásicos en hígado, notamos que estos provienen principalmente del páncreas; Riihimäki menciona en su estudio epidemiológico de metástasis de TNE (6), que al encontrar metástasis hepáticas de TNE, se debe pensar primeramente en intestino delgado como sitio de origen, sin embargo, él comenta que hay mayor potencial metastásico si el tumor primario se encuentra en intestino delgado o tracto pancreatobiliar a diferencia de aquellos que provienen de estómago, apéndice y recto, tal y como lo descubrimos en nuestro trabajo.

Al estudiar solamente muestras de las metástasis hepáticas, la distribución en cuanto a la frecuencia de los tumores primarios y estado de la presentación que se reporta es diferente. Ya que en nuestro trabajo se encontró mayor proporción de tumores provenientes de páncreas (37.7%) y la mayoría de los pacientes (84.9%) tuvieron metástasis hepáticas al momento de la presentación, un poco distinto a lo que se documenta en el Registro Nacional de Cáncer de España donde el 57% presentaron enfermedad a distancia al momento del diagnóstico (5), y con mayor frecuencia en recto y yeyuno. En otras series el porcentaje de pacientes con enfermedad a distancia varía desde 44.2% hasta 69.4%, lo cual, como se ha venido diciendo, difiere debido a nuestro tipo de muestra, características de las poblaciones analizadas y diseños de los estudios.

Los pacientes de nuestro estudio tuvieron menor tiempo de supervivencia si el sitio primario era desconocido (10.4 meses) comparados con el primario que si es conocido (60 meses), lo cual es análogo a lo reportado en la bibliografía (6). No obstante, el estadio de la enfermedad es de los principales predictores de supervivencia, lo que también se observa en nuestro análisis, ya que todos nuestros pacientes se encuentran en estadio clínico IV (enfermedad metastásica a distancia), encontramos que el síndrome carcinoide -que tendría peor pronóstico- o el estado de funcionalidad del tumor -que daría mejor pronóstico- no tienen impacto en la supervivencia. Se menciona lo contrario en otro estudio (41), pero nosotros observamos que esto se esperaría más si se tratara solo del tumor primario con un estadio clínico menor. Se observó que la presencia de síndrome carcinoide se mostró con afectación hepática difusa o múltiple, no obstante, no quedó tan clara la relación, ya que otros pacientes sin síndrome carcinoide también presentaron este tipo de actividad en el hígado.

La medición de la Cromogranina A en sangre no aportó datos relevantes sobre el síndrome carcinoide, sin embargo, sí fue un indicador del avance de la enfermedad, lo que confirma que sirve como un marcador sérico confiable para medir la progresión de la enfermedad, con todo, en nuestro estudio, no fue un factor de importancia pronóstica significativo a diferencia de lo que se ha mencionado en otros estudios (41).

En la práctica actual de los laboratorios de patología se reporta el grado del TNE primario, pero pocos reportan de rutina el grado de las metástasis. Sin embargo, la supervivencia es determinada por el comportamiento de los tumores más agresivos, por ello puede ser pronóstico conocer el grado de los tumores metastásicos también (21,41), que fue lo que se hizo en este estudio, encontrándose un impacto en la supervivencia de acuerdo con el grado histológico de la metástasis hepática. Por ello consideramos importante reportar el grado en la metástasis de TNE.

En nuestro estudio hubo pocas discrepancias al comparar el grado del sitio primario y el de la metástasis hepática, solo en 5 casos se encontraron diferencias de grados, distinto a lo que menciona Grillo (41), donde ella alude que las metástasis tienden a mostrar un grado mayor. Shi (37) menciona que el aumento en el grado de las metástasis está asociado con una menor sobrevida.

En lo que concierne a la evaluación histopatológica, se observó que no hubo concordancia entre el número de mitosis y el índice de proliferación medido por Ki-67. Vimos que en muchos tumores el número de mitosis era significativamente menor que el porcentaje de Ki-67 en cuanto a los criterios dados por la OMS para la gradificación histológica, así, por ejemplo, si nos basáramos exclusivamente en el conteo de 1 mitosis, este quedaría en G1, pero al realizar un Ki-67 se evalúa un índice de proliferación del 8% quedando en G2; dicho esto habría una subgradificación si solo analizáramos la laminilla con H&E. Por ello se considera importante destacar lo imprescindible que es evaluar un TNE no solo con tinción de H&E, sino complementarlo de rutina con la inmunohistoquímica Ki-67. Para intentar mejorar el conteo de las mitosis, realizamos, en algunos casos, reacción de inmunohistoquímica para Fosfohistona H3, para de esta forma poder resaltar mayor número de figuras mitóticas. Sin embargo, esto no fue de mucho beneficio, ya que al final de la evaluación, no cambió el grado histológico con el conteo de mitosis con esta técnica.

El cálculo del índice de proliferación Ki-67 se ha visto que tiene valor pronóstico significativo (42); en nuestro estudio, se evaluó en los tejidos de hígado con TNE metastásico donde fue posible hacerlo, sin embargo, no lo evaluamos como una entidad sola, sino que nos basamos en él para darle grado a la lesión, de esta manera el análisis del Ki-67 en relación con la supervivencia, fue dado indirectamente al correlacionar la sobrevida con los grados histológicos de las NNE de nuestra muestra. No obstante, en la práctica diaria es importante y se recomienda reportar, además del grado, el porcentaje del Ki-67 calculado, ya que, al ser una variable continua, nos dará más información sobre el comportamiento que pudiera tener la lesión evaluada, así como la pauta para el tratamiento,

especialmente en aquellos tumores G3 donde el punto de corte para cierto tipo de terapia es 55% (50).

Otro problema es la heterogeneidad del Ki-67 en un solo tumor, de esta manera, el índice de Ki-67 que es engañosamente bajo siempre es una posibilidad con muestras de biopsia con aguja (29). Esto podría ser la explicación por la que encontramos un grado menor en algunas de nuestras muestras de hígado, en comparación con el tumor primario. Dado que observamos impacto en la supervivencia cuando hay presencia de atipia nuclear, necrosis, apoptosis y patrón de crecimiento sólido, es importante que también se evalúen estas características al analizar una muestra de tejido de TNE, ya que además del Ki-67 o el número de mitosis (si no se cuenta con Ki-67), estas nos pueden dar información valiosa sobre el comportamiento que tendrá la neoplasia.

En los últimos años, en algunos estudios, se ha sugerido que los subgrupos de pacientes con tumores G1 o G2 tienen un riesgo mayor de progresión cuando se utiliza el valor de Ki-67 del 5% como punto de corte en lugar del 3%. Sin embargo, la evidencia en el manejo clínico aún es insuficiente para justificar su cambio(13). Sería interesante evaluar esta cuestión y correlacionar la supervivencia con esta nueva gradificación.

En concordancia con lo que señala la literatura, la modalidad terapéutica referente a la resección quirúrgica del tumor primario, tiene mejor impacto en la supervivencia. De igual manera, cuando el tumor primario es irreseccable y ya se tiene un estadio clínico avanzado, los pacientes se benefician más al recibir algún tipo de tratamiento, que el no realizar ninguna maniobra terapéutica.

Algo que es importante resaltar, es el caso del trasplante hepático realizado en nuestro instituto, un caso de éxito donde se logró reseccar el tumor primario localizado en yeyuno y la actividad hepática del explante, los cuales correspondieron a un TNEbd G1, actualmente la paciente se encuentra viva, aún con persistencia de metástasis en el injerto, en mantenimiento con análogos de

somatostatina, sin progresión de la enfermedad, con una supervivencia de 126 meses hasta la fecha.

Se observó que el tratamiento y nomenclatura de estos tumores a lo largo de los años ha variado, donde anteriormente se daba un esquema de quimioterapia cuando había enfermedad metastásica a pesar de tener un bajo grado, así como a estos TNE metastásicos se les llamaba carcinomas por el simple hecho de ser enfermedad a distancia sin tomar en cuenta el grado histológico.

Una cuestión que no se exploró por completo fue el evaluar el rendimiento de algunos marcadores de inmunohistoquímica para sugerir posibles sitios primarios como CDX2 y TTF-1, ya que no se realizó en todos los casos y la mayoría de estos correspondieron a tumores de origen primario desconocido, por lo que no fue viable efectuar la correlación.

En nuestro trabajo no fue posible determinar las alteraciones genéticas propias de las NNE de nuestra muestra. Como menciona Park (43) las alteraciones en DAXX y ATRX así como en MEN1 tienen importancia pronóstica. De igual modo, el determinar la presencia de mutaciones en Rb1 y TP53 habría sido de gran ayuda para diferenciar TNE G3 de CNE en nuestros tumores. Un evento que nos llamó la atención fue la progresión de un TNEbd a uno poco diferenciado, se ha mencionado que usualmente este fenómeno no ocurre, pero ha habido ciertos casos reportados, con el estudio genético, se podría dilucidar esta cuestión. Estudios moleculares de las NNE de nuestra población mexicana serían recomendables para poder adaptarlos y establecer nuevos factores pronósticos que nos guíen en un mejor tratamiento más dirigido hacia cada individuo en particular.

A pesar del largo periodo de análisis de la base de datos de este trabajo, no fue posible obtener una muestra mayor, por lo que sería apropiado realizar este análisis con una muestra con mayor cantidad de casos y que sea interinstitucional para que sea representativo de nuestra población mexicana.

## 11 CONCLUSIONES

Este estudio es diferente en lo que respecta a aquellos que se han centrado en el análisis de TNE, puesto que en la mayoría se toman en cuenta únicamente los tumores primarios y su comportamiento clínico, no así en el nuestro, donde se realizó análisis de las metástasis hepáticas y los tumores primarios a los que se tuvo acceso.

Este estudio retrospectivo nos permitió observar que el comportamiento de la enfermedad por TNE está condicionada principalmente por el estadio clínico y por las características histopatológicas del tumor. Por lo que se desea destacar que, si no se tiene acceso al tumor primario, la evaluación morfológica y el Ki-67 de la metástasis puede proveer información valiosa sobre el grado histológico, y de este modo, guiar la modalidad terapéutica más adecuada para el paciente.

Advertimos que el potencial metastásico de los TNE varía profundamente dependiendo del sitio primario, y que estos muestran una clara preferencia por metastatizar al hígado. La supervivencia es menor cuando se tienen metástasis hepáticas, especialmente cuando es de sitio desconocido.

Se comprobó que la resección del tumor primario, así como la complementación con alguna modalidad terapéutica dirigida a la metástasis, ya sea con terapia sistémica o de intervención directamente al hígado, tiene impacto significativo en la sobrevida del paciente. Por lo que es importante dar un seguimiento estrecho al paciente, de ser posible resecar el tumor primario y al detectar la aparición de metástasis hepática, realizar alguna maniobra dirigida.

Todo lo recabado en este trabajo, debe interpretarse en el contexto de la población mexicana en un centro de referencia de tercer nivel, que, sin embargo, nos provee información relevante para identificar grupos de riesgo y elaborar mejores planes terapéuticos para mejorar la sobrevida de los pacientes.

## 12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hofland J, Kaltsas G, de Herder WW. Advances in the diagnosis and management of well-differentiated neuroendocrine neoplasms. Vol. 41, Endocrine Reviews. Endocrine Society; 2020.
2. Oronsky B, Ma PC, Morgensztern D, Carter CA. Nothing But NET: A Review of Neuroendocrine Tumors and Carcinomas. Vol. 19, Neoplasia (United States). Neoplasia Press, Inc.; 2017. p. 991–1002.
3. Hofland J, Kaltsas G, de Herder WW. Advances in the diagnosis and management of well-differentiated neuroendocrine neoplasms. Vol. 41, Endocrine Reviews. Endocrine Society; 2020.
4. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al. One hundred years after “carcinoid”: Epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(18).
5. Huguet I, Grossman AB, O’Toole D. Changes in the Epidemiology of Neuroendocrine Tumours. In: *Neuroendocrinology*. S. Karger AG; 2016. p. 105–11.
6. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. The epidemiology of metastases in neuroendocrine tumors. *International Journal of Cancer*. 2016 Dec 15;139(12):2679–86.
7. Alvarado-Cabrero I, de Anda-González J, Hernández-Hernández B, Mantilla-Morales A, Valencia-Cedillo R, Medrano-Guzmán R. Características clínico-patológicas de 127 casos de neoplasias neuroendocrinas del aparato gastrointestinal y páncreas (NNE-GEP) estudiadas en un hospital de oncología. *Revista de Gastroenterología de México*. 2012;77(4):174–80.
8. Morales Gutiérrez Ó, Vinageras J. Expresión de Marcadores de Inmunohistoquímica, Características Epidemiológicas e Histopatológicas en pacientes con Tumores Neuroendócrinos del Tracto Digestivo. Estudio Multicéntrico en una población de la Ciudad de México. TESIUNAM. 2019;
9. Hernandez D, Salcedo I, Aguayo A. Observational study of neuroendocrine tumors in a Mexican cohort. *Journal of Clinical Oncology*. 2016;34(15\_suppl).

10. Enríquez Román A. Características clínicas de los pacientes con diagnóstico de tumores neuroendocrinos tratados en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Tesis UNAM. 2019;
11. Camargo VR, Huitzil-Melendez FD, Gamboa-Dominguez A, Cano Garia F, Galvan Salazar G, Leon-Rodriguez E. Prognostic factors of neuroendocrine tumors (NETs) in a Mexican cohort. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(15\_suppl).
12. Vilatobá M, Hurtado-Gómez S, García-Juárez I, Huitzil-Melendez D, Gamboa-Domínguez A. Liver transplantation in a patient with metastatic neuroendocrine tumor: A first report in Mexico [Internet]. Mexico City; 2019 [cited 2021 Sep 22]. Available from: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/en-liver-transplantation-in-patient-with-articulo-S2255534X19300672>
13. Arends, Mark J. Fukayama, Masashi, Klimstra DS, Lam, Alfred King Yin Nagtegaal, et al. WHO Classification of Tumours, Digestive System Tumours. 5th ed. Lyon, France: IARC Press; 2019.
14. Sorbye H, Baudin E, Perren A. The Problem of High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms: Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors, Neuroendocrine Carcinomas, and Beyond. Vol. 47, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2018. p. 683–98.
15. Halperin DM, Shen C, Dasari A, Xu Y, Chu Y, Zhou S, et al. Frequency of carcinoid syndrome at neuroendocrine tumour diagnosis: a population-based study. *The Lancet Oncology*. 2017;18(4).
16. Pavel M, Baudin E, Couvelard A, Krenning E, Öberg K, Steinmüller T, et al. ENETS consensus guidelines for the management of patients with liver and other distant metastases from neuroendocrine neoplasms of foregut, midgut, hindgut, and unknown primary. Vol. 95, *Neuroendocrinology*. 2012.
17. Milione M, Maisonneuve P, Pellegrinelli A, Grillo F, Albarello L, Spaggiari P, et al. Ki67 proliferative index of the neuroendocrine component drives MANEC prognosis. *Endocrine-Related Cancer*. 2018;25(5).

18. Manguso N, Nissen N, Hendifar A, Harit A, Mirocha J, Friedman M, et al. Prognostic factors influencing survival in small bowel neuroendocrine tumor with liver metastases. *Journal of Surgical Oncology*. 2019;120(6):926–31.
19. Keck KJ, Choi A, Maxwell JE, Li G, O’Dorisio TM, Breheny P, et al. Increased Grade in Neuroendocrine Tumor Metastases Negatively Impacts Survival. *Ann Surg Oncol*. 2017;24(8):2206–12.
20. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. Vol. 76, *Histopathology*. 2020.
21. Klimstra DS, Modlin IR, Coppola D, Lloyd R v, Suster S. The Pathologic Classification of Neuroendocrine Tumors A Review of Nomenclature, Grading, and Staging Systems [Internet]. 2010. Available from: [www.pancreasjournal.com](http://www.pancreasjournal.com)
22. McCall CM et al. Grading of Well-differentiated Pancreatic Neuroendocrine Tumors Is Improved by the Inclusion of Both Ki67 Proliferative Index and Mitotic Rate. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(11):1671–7.
23. Klimstra DS, Modlin IR, Coppola D, Lloyd R V., Suster S. The pathologic classification of neuroendocrine tumors: A review of nomenclature, grading, and staging systems. *Pancreas*. 2010;39(6):707–12.
24. Basturk O, Yang Z, Tang LH, Hruban RH, Adsay V, McCall CM, et al. The high-grade (WHO G3) pancreatic neuroendocrine tumor category is morphologically and biologically heterogenous and includes both well differentiated and poorly differentiated neoplasms. *American Journal of Surgical Pathology*. 2015;39(5):683–90.
25. Tang LH, Untch BR, Reidy DL, O’Reilly E, Dhall D, Jih L, et al. Well-differentiated neuroendocrine tumors with a morphologically apparent high-grade component: A pathway distinct from poorly differentiated neuroendocrine carcinomas. *Clinical Cancer Research*. 2016;22(4):1011–7.
26. 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;40(9):1192–202.
27. Sorbye H, Baudin E, Perren A. The Problem of High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Neoplasms: Well-Differentiated Neuroendocrine Tumors, Neuroendocrine Carcinomas, and Beyond. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2018;47(3):683–98.
  28. Vélayoudom-Céphise FL, Duvillard P, Foucan L, Hadoux J, Chougnat CN, Leboulleux S, et al. Are G3 ENETS neuroendocrine neoplasms heterogeneous? *Endocrine-Related Cancer*. 2013;20(5):649–57.
  29. Cree I. Digestive System Tumours - WHO Classification of Tumours. 5th ed. Board WC of TE, editor. Lyon CEDEX 08, France; 2019.
  30. Fazio N, Milione M. Heterogeneity of grade 3 gastroenteropancreatic neuroendocrine carcinomas: New insights and treatment implications. *Cancer Treatment Reviews*. 2016;50:61–7.
  31. Tang LH, Gonen M, Hedvat C, Modlin IM, Klimstra DS. Objective quantification of the ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: A comparison of digital image analysis with manual methods. *American Journal of Surgical Pathology*. 2012;36(12):1761–70.
  32. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific Reports*. 2017 Dec 4;7(1).
  33. Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist K, Sundquist J, Hemminki K. The epidemiology of metastases in neuroendocrine tumors. *International Journal of Cancer*. 2016;139(12):2679–86.
  34. Trikalinos NA, Tan BR, Amin M, Liu J, Govindan R, Morgensztern D. Effect of metastatic site on survival in patients with neuroendocrine neoplasms (NENs). An analysis of SEER data from 2010 to 2014. *BMC Endocrine Disorders*. 2020;20(1):1–10.
  35. Gibson WE, Gonzalez RS, Cates JMM, Liu E, Shi C. Hepatic micrometastases are associated with poor prognosis in patients with liver

- metastases from neuroendocrine tumors of the digestive tract. *Hum Pathol*. 2018;79:109–15.
36. Zen Y, Heaton N. Elevated Ki-67 labeling index in “synchronous liver metastases” of well differentiated enteropancreatic neuroendocrine tumor. *Pathology International*. 2013;63(11):532–8.
  37. Yang Z, Tang LH, Klimstra DS. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: Implications for prognostic stratification. *American Journal of Surgical Pathology*. 2011;35(6):853–60.
  38. Richards-Taylor S, Tilley C, Jaynes E, Hu H, Armstrong T, Pearce NW, et al. Clinically Significant Differences in Ki-67 Proliferation Index between Primary and Metastases in Resected Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Pancreas*. 2017;46(10):1354–8.
  39. Shi C, Gonzalez RS, Zhao Z, Koyama T, Cornish TC, Hande KR, et al. Liver Metastases of Small Intestine Neuroendocrine Tumors: Ki67 heterogeneity and WHO grade discordance with primary tumors. *Physiology & behavior*. 2015;143(3):398–404.
  40. Scott AT, Breheny PJ, Keck KJ, Bellizzi AM, Dillon JS, O’Dorisio TM, et al. Effective cytoreduction can be achieved in patients with numerous neuroendocrine tumor liver metastases (NETLMs). *Surgery*. 2019;165(1):166–75.
  41. Grillo F, Albertelli M, Brisigotti MP, Borra T, Boschetti M, Fiocca R, et al. Grade increases in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor metastases compared to the primary tumor. *Neuroendocrinology*. 2016 Aug 1;103(5):452–9.
  42. Pelosi G, Bresaola E, Bogina G, Pasini F, Rodella S, Castelli P, et al. Endocrine tumors of the pancreas: Ki-67 immunoreactivity on paraffin sections is an independent predictor for malignancy: A comparative study with proliferating-cell nuclear antigen and progesterone receptor protein immunostaining, mitotic index, and other clinicopathologic variables. *Human Pathology*. 1996;27(11).

43. Park JK, Paik WH, Lee K, Ryu JK, Lee SH, Kim YT. DAXX/ATRX and MEN1 genes are strong prognostic markers in pancreatic neuroendocrine tumors. *Oncotarget*. 2017;8(30).
44. Couvelard A, Deschamps L, Ravaud P, Baron G, Sauvanet A, Hentic O, et al. Heterogeneity of tumor prognostic markers: A reproducibility study applied to liver metastases of pancreatic endocrine tumors. *Modern Pathology*. 2009;22(2):273–81.
45. Janson ET, Holmberg L, Stridsberg M, Eriksson B, Theodorsson E, Wilander E, et al. Carcinoid tumors: Analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center. *Annals of Oncology*. 1997;8(7).
46. Strosberg J, Nasir A, Coppola D, Wick M, Kvols L. Correlation between grade and prognosis in metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Human Pathology*. 2009;40(9):1262–8.
47. Tomassetti P, Campana D, Piscitelli L, Casadei R, Nori F, Brocchi E, et al. Endocrine tumors of the ileum: Factors correlated with survival. *Neuroendocrinology*. 2006;83(5–6):380–6.
48. Ahmed A, Turner G, King B, Jones L, Culliford D, McCance D, et al. Midgut neuroendocrine tumours with liver metastases: Results of the UKINETS study. *Endocrine-Related Cancer*. 2009;16(3):885–94.
49. Coriat R, Walter T, Terris B, Couvelard A, Ruszniewski P. Gastroenteropancreatic Well-Differentiated Grade 3 Neuroendocrine Tumors: Review and Position Statement. *The Oncologist*. 2016;21(10):1191–9.
50. Shah MH, Goldner WS, Benson AB, Bergsland E, Blaszkowsky LS, Brock P, et al. Neuroendocrine and Adrenal Tumors, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2021;19(7).
51. Council for International Organizations of Medical Sciences, World Health Organization. International ethical guidelines for health-related research involving humans. 122.

### 13 BIBLIOGRAFÍA

Goldblum JR, Lamps LW, McKenny J, et al, eds. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. 11th ed. Cambridge, MA: Elsevier, 2018. 2,306 pages.

Khan A. *Surgical Pathology of Endocrine and Neuroendocrine Tumors*. 1st edition, Massachusetts, USA, Humana Press, Springer, 2009, 248 pp.

Asa S, La Rosa S, Mete O. *The Spectrum of Neuroendocrine Neoplasia. A Practical Approach to Diagnosis, Classification and Therapy*. Switzerland, Springer, 2021, 476 pp

Bornstein-Quevedo and Gamboa-Domínguez. Duodenal and ampullary carcinoids. *Human Pathology*. 2001 volume 32, no. 11.

Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, and Theise ND (2010). World Health Organization (WHO) Classification of Tumours of the Digestive System. 4th ed. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.

Modlin IM, Oberg K, and Chung DC (2008). Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Lancet Oncol* 9, 61–72.

## ANEXO 1

### CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	2021									
Actividades	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov
Obtención de la base de datos	x	x								
Elaboración del protocolo			x	x	x					
Revisión por el comité de ética						x	x			
Recolección de datos						x	x	x		
Análisis estadístico								x		
Redacción y entrega de tesis								x	x	

## ANEXO 2



Universidad Nacional Autónoma de México / Instituto  
Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"  
**Factores clínico-patológicos pronósticos en tumores  
neuroendocrinos bien diferenciados metastásicos en hígado**



### INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EDAD: \_\_\_\_\_ GÉNERO: \_\_\_\_\_ EXPEDIENTE: \_\_\_\_\_ NO. QUIRÚRGICO \_\_\_\_\_  
BLOQUE: \_\_\_\_\_ TIPO DE BIOPSIA: \_\_\_\_\_ FECHA DEL DX: \_\_\_\_\_  
DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

#### GRADO HISTOLÓGICO

- G1 (bajo)  
 G2 (intermedio)  
 G3 (alto)  
 Carcinoma de células pequeñas  
 Carcinoma de células grandes

#### ÍNDICE DE MITOSIS

- <2 por 2 mm<sup>2</sup> \_\_\_\_\_  
 2-20 por 2 mm<sup>2</sup> \_\_\_\_\_  
 >20 por 2 mm<sup>2</sup> \_\_\_\_\_

#### ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN KI-67

- <3% \_\_\_\_\_  
 3-20% \_\_\_\_\_  
 20-55% \_\_\_\_\_  
 >55% \_\_\_\_\_

#### INDICADORES DE MALIGNIDAD

- Anaplasia focal, 5 focos, difusa  
 Necrosis focal, <5%, <10%  
 Invasión linfovascular \_\_\_\_\_  
 Desmoplasia <25% 50% >75%  
 Otro \_\_\_\_\_

#### MARCADORES DE INMUNOHISTOQUÍMICA

- Cromogranina \_\_\_\_\_  VIP \_\_\_\_\_  
 Sinaptofisina \_\_\_\_\_  Gastrina \_\_\_\_\_  
 Somatostatina \_\_\_\_\_  Serotonina \_\_\_\_\_  
 Glucagón \_\_\_\_\_  ACTH \_\_\_\_\_  
 Insulina \_\_\_\_\_  Otro \_\_\_\_\_

#### DIFERENCIACIÓN

- Bien diferenciado  
 Poco diferenciado

#### PATRÓN DE CRECIMIENTO

#### PATRÓN DE INFILTRACIÓN

#### MOMENTO DIAGNÓSTICO

- Primario conocido  
 No  
 Páncreas  
 Intestino delgado  
 Intestino grueso  
 Estómago  
 Otro \_\_\_\_\_  
 Sincrónico  
 Metacrónico \_\_\_\_\_ años  
Estadio \_\_\_\_\_

#### FOCALIDAD DEL TUMOR

- Lóbulo derecho  
 Lóbulo izquierdo  
 Ambos lóbulos  
 No especificado  
 Otro: \_\_\_\_\_

#### TAMAÑO DEL TUMOR

- < 3.5 cm  
 > 3.5 cm  
 No especificado

#### TRATAMIENTO NO QUIRÚRGICO

- Análogos de somatostatina  
 Quimioterapia  
 Radioterapia  
Ciclos: \_\_\_\_\_

#### TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

- Resección primaria  
 Hepatectomía  
 Quimioembolización  
 Ablación por radiofrecuencia  
 Trasplante hepático  
 Otro \_\_\_\_\_

#### SUPERVIVENCIA

- Vivo con enfermedad \_\_\_\_\_ meses  
 Vivo sin enfermedad \_\_\_\_\_ meses  
 Finado con enfermedad \_\_\_\_\_ meses  
 Finado sin enfermedad \_\_\_\_\_ meses

#### NOTAS:

#### BLOQUES Y ESTUDIOS A REALIZAR:

## DATOS ADICIONALES Y DEL TUMOR PRIMARIO

NO. QUIRÚRGICO \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_  
DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_

### GRADO HISTOLÓGICO

- G1 (bajo)
- G2 (intermedio)
- G3 (alto)
- Carcinoma de células pequeñas
- Carcinoma de células grandes

### ÍNDICE DE MITOSIS

- <2 por 2 mm<sup>2</sup>
- 2-20 por 2 mm<sup>2</sup>
- >20 por 2 mm<sup>2</sup>

### ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN KI-67

- <3% \_\_\_\_\_
- 3-20% \_\_\_\_\_
- 20-55% \_\_\_\_\_
- >55% \_\_\_\_\_

### INDICADORES DE MALIGNIDAD

- Anaplasia
- Necrosis
- Invasión linfovascular
- Invasión perineural
- Otro \_\_\_\_\_

### MARCADORES DE INMUNOHISTOQUÍMICA

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Cromogranina _____  | <input type="checkbox"/> VIP _____        |
| <input type="checkbox"/> Sinaptofisina _____ | <input type="checkbox"/> Gastrina _____   |
| <input type="checkbox"/> CD56 _____          | <input type="checkbox"/> Serotonina _____ |
| <input type="checkbox"/> Glucagón _____      | <input type="checkbox"/> ACTH _____       |
| <input type="checkbox"/> Insulina _____      | <input type="checkbox"/> Otro _____       |

### DIFERENCIACIÓN

- Bien diferenciado
- Poco diferenciado

### PATRÓN DE CRECIMIENTO

### PATRÓN DE INFILTRACIÓN

### DATOS DE LABORATORIO

- Cromogranina A \_\_\_\_\_
- Fosfatasa Alcalina \_\_\_\_\_
- DHL \_\_\_\_\_
- 5-HIAA \_\_\_\_\_

### DATOS CLÍNICOS

- Síndrome carcinoide
- Insuficiencia cardiaca secundaria
- Segunda neoplasia
- Comorbilidades \_\_\_\_\_

### TAMAÑO DEL TUMOR

- No especificado

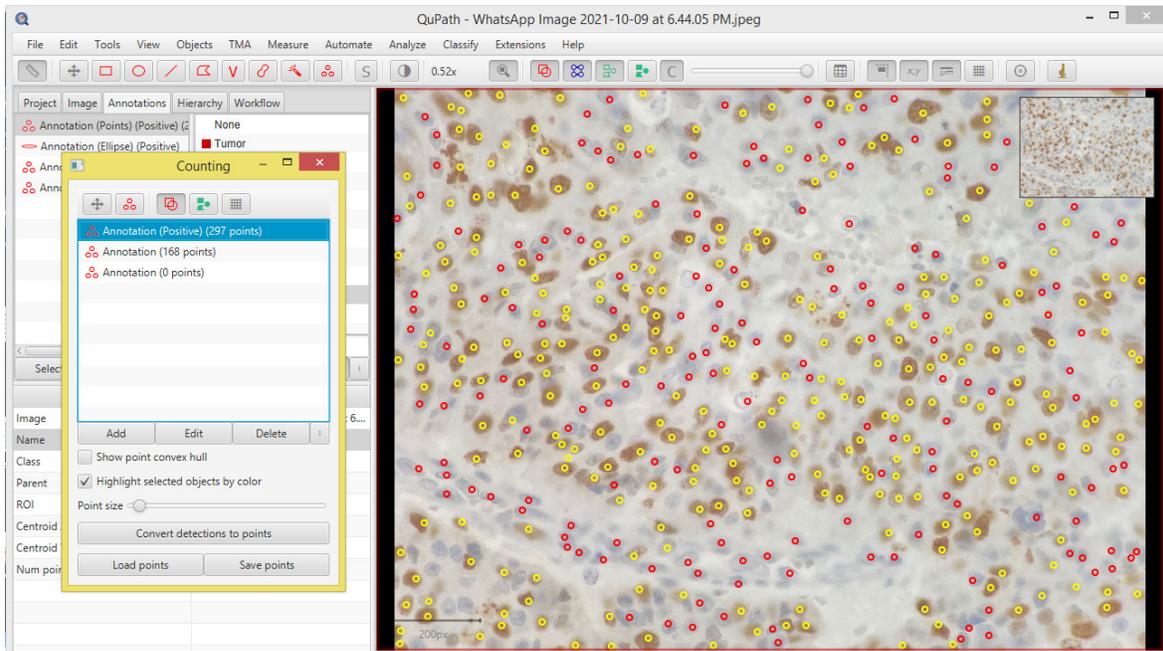
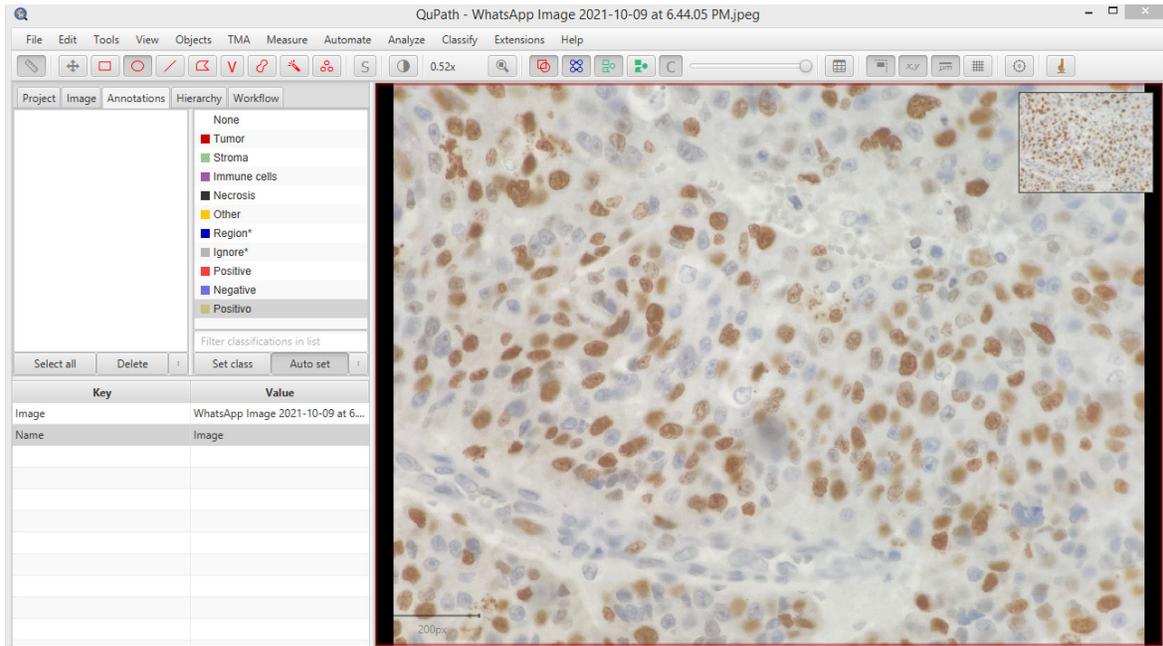
### HÍGADO RESIDUAL

- Sin alteraciones
- Obstrucción
- 
- Otro: \_\_\_\_\_

### NOTAS O HALLAZGOS ADICIONALES:

### BLOQUES Y ESTUDIOS A REALIZAR:

### ANEXO 3



Conteo manual de células positivas para la reacción de inmunohistoquímica Ki-67, en un aumento de 400x (a seco fuerte) en el “hot spot”, para cálculo del índice de proliferación (32). En este caso fue un porcentaje de Ki-67 del 64%, dejando a la neoplasia en un G3.