

## **TUMORI ENDOCRINE GASTROENTEROPANCREATICE. STUDII MORFOPATOLOGICE ȘI IMUNOHISTOCHIMICE**

**CODRUȚA LENCU<sup>1</sup>, ALEXANDRU ȘERBAN<sup>2</sup>, TEODOR ZAHARIE<sup>2</sup>,  
IACOB DOMȘA<sup>3</sup>, ADRIANA ZOLOG<sup>3</sup>, MONICA LENCU<sup>3</sup>**

**1 Clinica de Endocrinologie – UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca**

**2 Departamentul de Anatomie Patologică – Institutul Regional de  
Gastroenterologie și Hepatologie Cluj-Napoca**

**3 Spitalul CF – Clinica Medicală IV, Cluj-Napoca**

### **Rezumat**

*Tumorile neuroendocrine gastroenteropancreatice (GEP-NETs) sunt neoplazii rare ce se dezvoltă din celulele neuroendocrine ale tractului gastroenteropancreatic (cel puțin 15 tipuri de celule) caracterizate printr-un anumit fenotip (neuroendocrin). Ele sunt capabile de a produce hormoni diferiți ce pot fi recunoscuți prin consecințele clinice și diferite tehnici de determinare.*

*S-au luat în studiu 100 de pacienți cu tumori neuroendocrine diagnosticați prin pattern-ul histologic și imunohistochimic (synaptophysin, chromogranine, enolaza neurospecifică, vimentin). S-au analizat câteva date de epidemiologie, aspecte morfopatologice (localizare, gradul de diferențiere, benigne sau carcinoame, invazia locală sau vasculară, prezența metastazelor), tipul funcțional (sindrom hormonal prezent) sau nefuncțional. Corelate cu datele clinice s-au evaluat GEP-NETs secretante (în studiul nostru tumori carcinoide, insulinomul glucagonomul).*

**Cuvinte cheie:** tumori neuroendocrine, tract gastrointestinal, pancreas, clasificare, morfopatologie

**Gastroenteropancreatic endocrine tumors. Pathomorphological and immunohistochemical studies**

### **Abstract**

*Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NETs) are rare neoplasms that develop from the neuroendocrine cells of the gastroenteropancreatic tract (at least 15 types of cells), characterized by a certain (neuroendocrine) phenotype. They are capable of producing different hormones that can be recognized by clinical consequences and various measurement techniques.*

*The study included 100 patients with neuroendocrine tumors, diagnosed by the histological and immunohistochemical pattern (synaptophysin, chromogranins, neuron-specific enolase, vimentin). Epidemiological data, pathomorphological*

*aspects (location, degree of differentiation, benign tumors or carcinomas, local or vascular invasion, presence of metastases), the functional type (presence of hormonal syndrome) or non-functional type were analyzed. In correlation with clinical data, hormone secreting GEP-NETs (in our study carcinoid tumors, insulinomas, glucagonomas) were evaluated.*

**Keywords:** neuroendocrine tumors, gastrointestinal tract, pancreas, classification, pathomorphology

#### Definiție. Clasificare

Tumorile neuroendocrine (NETs) sunt neoplasme care se dezvoltă din sistemul de celule neuroendocrine ce compun unele glande sau sunt diseminate/difuze în diferite organe. Prima categorie include adenohipofiza, paratiroidale, medulosuprarenala și ganglioni nervoși vegetativi, iar din a doua categorie tractul

gastrointestinal, pancreasul endocrin, tractul biliar, respirator, timusul, celulele C tiroidiene, tractul urogenital și pielea. Clasificarea OMS a sistemului de celule neuroendocrine cu tipul corespunzător de tumori sunt expuse în tabelul I [1].

Tabelul I. Sistemul de celule neuroendocrine și tumorile corespunzătoare (clasificare OMS)

I. Glande	Tipul de tumoră
Adenohipofiza	Adenom
Paratiroida	Adenom/Carcinom
Ganglion nervos vegetativ	Paragangliom
Medulosuprarenala	Feocromocitom
Diseminate/difuze	
Tract gastrointestinal	Tumori neuroendocrine/carcinom
Pancreas endocrin	Tumori neuroendocrine/carcinom
Tract biliar	Tumori neuroendocrine/carcinom
Tract respirator	Carcinoid, carcinom neuroendocrin
Timus	Carcinoid
Celule C tiroidiene	Carcinom medular tiroidian
Tract urogenital	Carcinoid
Piele	Carcinom cu celule Merkel

Tabelul I. Sistemul de celule neuroendocrine și tumorile corespunzătoare (clasificare OMS)

Tumorile dezvoltate din celulele sistemului endocrin difuz se clasifică la rândul lor în tumori endocrine pure și tumori mixte endocrine/exocrine [2]. Tumorile gastroenteropancreatice neuroendocrine (GEP-NETs) pure cuprind un grup larg de tumori, diferite din punct de vedere biologic, prognostic și genetic.

În mod practic se preferă clasificarea histopatologică după gradul de diferențiere celulară care permite și

aprecierea prognosticului (Tabelul II Clasificare OMS) [1, 3, 4].

Tabelul II. Clasificarea OMS a neoplasmelor neuroendocrine gastroenteropancreatice [4]

<b>Locul</b>	<b>Bine diferențiate Tumoră endocrină benignă</b>	<b>Bine diferențiate Tumoră endocrină incertă</b>	<b>Bine diferențiate Carcinom endocrin (grad redus de malignitate)</b>	<b>Slab diferențiate Carcinom endocrin (grad înalt de malignitate)</b>
Pancreas	Limitată la pancreas < 2 cm  <2 mitoze/10 HPF  < 2% Ki-67 celule pozitive fără invazie vasculară	Limitată la pancreas ≥ 2 cm  > 2 mitoze/ 10 HPF  < 2% Ki-67 celule pozitive sau invazie vasculară	Bine până la moderat diferențiată Invazie locală și/sau metastaze Rata mitozei adesea înaltă (2-10/10 HPF) Ki-67 index > 5%	Carcinom cu celule mici Necroză  > 10 mitoze/10 HPF  > 15% Ki-67 celule pozitive Invazie vasculară și/sau perineurală
Stomac	Limitată la mucoasă – submucoasă ≤ 1cm Fără invazie vasculară	Limitată la mucoasă – submucoasă > 1 cm sau invazie vasculară	Bine sau moderat diferențiată Invazia muscularei propria sau peste sau metastaze	Carcinom cu celule mici
Duoden, jejun superior	Limitată la mucoasă – submucoasă ≤ 1 cm fără invazie vasculară	Limitată la mucoasă – submucoasă > 1 cm sau invazie vasculară	Bine sau moderat diferențiată Invazie în musculara propria sau peste sau metastaze	Carcinom cu celule mici
Ileon, colon, rect	Limitată la mucoasă – submucoasă ≤ 1 cm (intestin subțire)	Limitată la mucoasă – submucoasă > 1 cm (intestin subțire)	Bine sau moderat diferențiată Invazie în musculara propria sau peste sau metastaze	Carcinom cu celule mici
Apendice	Nonfuncțional Limitat la peretele apendicular  ≤ 2 cm fără invazie vasculară	Productor de enteroglucagon Limitat până la subseroasă  > 2 cm sau invazie vasculară	Bine sau moderat diferențiat Invazie în mezoapendice sau peste sau metastaze	Carcinom cu celule mici

HPF - high power field

Tabelul II. Clasificarea OMS a neoplasmelor neuroendocrine gastroenteropancreatice [4]

Caracteristică a celulelor GEP-NETs este fenotipul secretor de hormoni peptidici și monoamine în exces, celulele individuale posedând ambele capacități, ce pot determina o mulțime de efecte, precum hipersecreție

gastrică acidă, motilitate intestinală patologică, calculi biliari, hipoglicemie etc.  
Examenul histologic cu colorația hematoxilină și eozină (H&E) nu poate identifica cu certitudine tipul de celule fiind necesare examinări de

imunohistochimie [1]. Totuși există un pattern neuroendocrin: celule relativ uniforme, rotunde sau ovalare, așezate în pseudorozete sau trabecular, cu citoplasma abundentă eozinofilică, fin granulară, cu nucleu rotund sau oval, cu nucleol vizibil sau nu.

GEP-NETs asemenea celulelor normale ale sistemului neuroendocrin expresează antigene care pot fi makeri de identificare. Mai frecvent markerii fenotipului neuroendocrin sunt: synaptophysin, chromogranine A, B și C, neurospecific enolaze (NSE) [5, 6], HSL-19, protein convertaza PC-2 și PC-3, molecule de adeziune pe celulele neurale (CD-56) [7], HER-2/neu, c-Met, MTA-1, VEGF [8].

Entitățile GEP-NETs sunt delimitate în funcție de localizare: în etajul digestiv superior (stomac, pancreas, duoden și jejun superior), mijlociu (jejunul inferior, ileonul, apendicele și cecul) și inferior (colon, rect) [9]. Între cele trei grupuri se constată diferențe considerabile ale profilului histologic, hormonal și/sau clinico-patologic [1]. GEP-NETs se pot asocia cu boli ereditare sau modificări moleculare [3].

Epidemiologie. Biologie. Prognostic

În general sunt neoplasme rare, dar cu rezerva de a nu fi recunoscute în condițiile neefectuării testelor complexe de identificare. Un studiu suedez estimează tumorile carcinoide (cele mai frecvente) la 2,0/100.000 loc la bărbați și de 2,4/100.000 loc la femei [10].

NETs de esofag sunt extrem de rare reprezentând 0,005% din GEP-NETs sau 1% din cancerile esofagiene. În general sunt tumori carcinoide, se dezvoltă la bărbați în decada 6/7 [11].

NETs de stomac reprezintă 2-4% din NETs gastrointestinale [10]. Alte studii le estimează în procente mult mai mari, 11-41% [11] fiind considerate cele mai frecvente NETs gastrointestinale. Sunt de 4 tipuri, cel mai frecvent fiind tipul I 70-80% [cit.1]. Tipul I NETs este în general mic de 0,5-1 cm diametru, rotund, polipoid, multifocal, localizat în mucoasă și submucoasă, cu chromogranina A intens pozitivă pentru celulele ECL (enterocromaffin like). Cel mai adesea se asociază cu gastrita atrofică autoimună corporeală, aclorhidrie și anemie pernicioasă. Stimularea celulelor antrale G determină hipergastrinemie cu consecințe asupra celulelor ECL care vor deveni hiperplazice realizând micronoduli. Clinic nu se asociază cu simptome de hipersecreție hormonală. În general, prognosticul este bun prin depistarea rapidă endoscopică și metastazarea tardivă.

Tipul II gastric de NETs se asociază adesea cu MEN-1, de cele mai multe ori se constată metastaze la dimensiuni peste 2 cm, genetic sunt prezente mutații ale genelor cromozomului 11q13, iar clinic evoluează cu sindrom Zollinger-Ellison.

Tipul III al NETs de stomac este sporadic, mai frecvent la bărbați; este solitar. La momentul diagnosticului, de regulă este peste 2 cm diametru, iar histologic este bine diferențiat cu dominanța celulelor ECL.

Tipul IV de NETs gastric este mai frecvent la bărbați și corespunde carcinomului gastric nediferențiat. La momentul diagnosticului tumora este peste 4 cm diametru, sunt prezente metastazele, iar reacția imunocitochimică pentru synaptophysin este intens pozitivă.

Tumorile neuroendocrine ale duodenului cuprind 5 tipuri distincte:

- gastrinomul duodenal (2/3 din tumori), deseori asociat cu MEN-1;
- tumora secretantă de somatostatina (15%) asociată cu neurofibromatoza tip 1 localizată mai frecvent la nivelul papilei sau periampular;
- NETs duodenale nonfuncționale (fără sindrom hormonal), dar secretantă de serotonină, calcitonină sau gastrină;
- carcinomul duodenal slab diferențiat, hormonal inactiv, localizat mai frecvent ampular;
- paragangliomul gangliocitic duodenal, cu evoluție, în general, benignă, iar imunocitochimic se constată prezența somatostatinei sau polipeptide pancreatice.

NETs de apendice este cel mai frecvent din GEP-NETs. Invadează rapid peretele apendicular și în general nu metastazează decât după creșterea în dimensiuni a tumorii peste 2 cm diametru. Imunocitochimic se constată prezența serotoninei și a substanței P, asemenea NETs ileal [1]. Uneori sunt mixte, denumite carcinoide cu celule goblet. Prognosticul NETs apendiculare este mai favorabil decât NETs ileale.

NETs de ileon se localizează mai frecvent în zona terminală și a valvei ileocecale. La momentul diagnosticului sunt de peste 2 cm diametru cu musculara proprie invadată și metastaze ganglionare. În 40% din cazuri tumorile pot fi multiple. Imunocitochimic celulele conțin serotonină, substanța P, kalicreină și catecolamine. Clinic poate fi prezent sindromul carcinoide (flush, diaree și fibroză

endocardică), îndeosebi la pacienții cu metastaze hepatice.

NETS de colon sunt foarte rare. Histologic sunt carcinoame slab diferențiate; prognosticul este rezervat. Imunocitochimic celulele sunt pozitive pentru synaptophysin.

NETs rectale sunt mai frecvente decât cele colonice, reprezintă 10% din GEP-NETs. Frecvent se diagnostichează la dimensiuni sub 1 cm, ceea ce le conferă un prognostic mai bun. Imunocitochimic celulele sunt pozitive pentru glucagon, glicentin și/sau polipeptid pancreatic (PP). Obșnuit sunt negative pentru chromogranina. La dimensiuni peste 2 cm sunt prezente metastazele, iar prognosticul devine rezervat.

NETs de pancreas mai frecvent sunt bine diferențiate. 50-60% secretă insulină, gastrină, polipeptid vasoactiv intestinal (VIP), glucagon sau hormoni, precum ACTH, hormon de creștere (GH). Consecințele clinice sunt date de hipersecreția hormonală: sindromul hipoglicemic, sindromul Zollinger-Ellison, sindromul Verner-Morrison, sindromul de glucagonom, acromegalia, sindromul Cushing. Tumorile NETs pancreatice pot fi nefuncționale. Se diagnostichează prin expansiunea tumorii. Un rol important în evaluarea prognosticului îl are invazia vasculară [13].

Cele mai frecvente dintre tumorile funcționale ale pancreasului sunt insulinoamele. În 10% din cazuri se asociază cu MEN-1. Sunt foarte rar maligne. 5% dintre insulinoame conțin depozite de amiloid.

Imunocitochimic se identifică insulina și proinsulina.

Gastrinoamele pancreatice la momentul diagnosticului au peste 2 cm diametru, au deja metastaze. Se asociază rar cu MEN-1.

Celelalte tipuri de tumori cu sindrom hormonal: VIP-om, glucagonom, producătoare de ACTH sau hormon de creștere la dimensiuni mai mari de 2 cm au prognosticul rezervat prin prezența metastazelor.

Tumorile nefuncționale își manifestă prezența prin sindromul de expansiune.

Material și metodă

S-au luat în studiu 100 de pacienți cu GEP-NETs din Spitalul CF și din Clinica Medicală III – Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie Cluj-Napoca. Diagnosticul s-a stabilit pe criterii clinice, imagistice (ecografie, CT abdominal), endoscopice, morfolopatice: microscopic, histologic (colorație H&E), tehnici de citochimie (Grimelius) și tehnici de imunohistochimie: neuron-specific enolaza (NSE), chromogranina A, vimentina și synaptophysin, utilizând anticorpi monoclonali.

Rezultate

GEP-NETs se înregistrează la 58 de bărbați (58%) și 42 de femei (42%) cu o rată B/F de 1,3/1. Vârsta la bărbați este cuprinsă între 25-82 de ani cu o medie de 57,5 ani, iar la femei între 20-77 ani, cu o medie de 50,3 ani.

Corelația dintre localizarea tumorală, gradul de diferențiere celulară și sindromul hormonal secretor este trecut în tabelul III.

Tabelul III. Corelația dintre localizare, histologie și sindromul hormonal al GEP-NETs

Grad de diferențiere	Stomac 23(23%)	Duoden 6 (6%)	Jejun Ileon 18 (18%)	Apendice Colon 20 (20%)	Rect 6 (6%)	Pancreas 15 (15%)	Tumora retroperito- neală 1 (1%)	Metastaze cu punct de plecare necunoscut 11 (11%)
Benigne bine diferențiate	1 (4,3%)	1 (16,6%)	-	2 (10%)	-	8 (53,3%)	-	-
Incertă bine diferențiate	2 (8,6%)	2 (33,3%)	12 (66,6%)	2 (10%)	1 (16,6%)	1 (6,6%)	-	-
Carcinom bine diferențiat	7 (30,4%)	3 (50%)	4 (22,2%)	10 (50%)	2 (33,3%)	3 (20%)	-	-
Carcinom slab diferențiat	12 (52,7%)	-	2 (11,1%)	6 (30%)	3 (50%)	3 (20%)	1 (100%)	-
Sindrom hormonal 59 (59%)	11 Carcinoid	4 Carcinoid	12 Carcinoid	12 Carcinoid	3 Carcinoid	8 – insulinom 1– glucagonom 3 – carcinoid	-	4 carcinoid

Tabelul III. Corelația dintre localizare, histologie și sindromul hormonal al GEP-NETs

Metastaze s-au înregistrat la 66 de pacienți în organele:

- ganglioni 66 100%
- ficat 48 75,7%
- plămâni 8 12,1%
- peritoneu 6 9,0%
- oase 6 9,0%
- ovare 3 4,5%
- perete abdominal 1 1,5%

#### Discuții

Studiile de epidemiologia tumorilor neuroendocrine GEP evidențiază o reală creștere în ultimii ani, în primul rând prin posibilitățile moderne de diagnostic. O analiză pe câțiva ani cronologici evidențiază o rată a GEP-NETs de la 0,05% la 0,15% din examinările histologice în serviciile noastre de morfopatologie. Dar per total ele sunt tumori rare. Sunt mai frecvente la bărbați așa cum constată și studiile din literatura de specialitate; dacă la bărbați domină în decada 6, la femei se înregistrează la vârste mai tinere.

Observațiile noastre constată că cea mai frecventă localizare a tumorilor endocrine este stomacul, urmat de apendice-colon și jejun-ileon. Studiile japoneze consemnează o incidență apropiată cu a noastră [3]. O treime din GEP-NETs sunt carcinoame slab diferențiate, invazive, cu metastaze la momentul diagnosticului. Cele mai frecvente NETs benigne bine diferențiate se constată în pancreas, ele fiind insulinoamele. Și în literatura de specialitate acestea ocupă locul I ca frecvență a PETs (tumori endocrine pancreatice) funcționale, urmate de gastrinom. În analiza cazurilor noastre, nu am înregistrat nici un caz de gastrinom, pacienții fiind selectați în ordinea internărilor.

Sindromul hormonal este înregistrat la 59% dintre pacienți pe seama tumorii carcinoide, cu diferite localizări, urmată de insulinoame.

Metastazele se constată mai frecvent în ganglionii loco-regionali sau la distanță și în ficat. Se pot dezvolta și în zone neobișnuite: ovare, perete abdominal.

#### Concluzii

1. GEP-NETs este mai frecventă la bărbați, dominând în decada 6; la femei se înregistrează la vârste mai tinere (39% la sub 40 de ani).
2. Diagnosticul de certitudine al GEP-NETs impune examinări imunohistochimice.
3. Majoritatea neoplasmelor neuroendocrine în momentul depistării sunt carcinoame (51%).

4. NETs de tract digestiv se localizează mai frecvent pe stomac (23%) urmată de apendice/colon (20%).

5. La 11 pacienți (11%) s-au înregistrat metastaze cu pattern neuroendocrin, cu punct de plecare neelucidat, 4 din ei având clinic sindrom carcinoid.

6. Sindromul hipersecreției de hormoni sau amine s-a constatat la 59 (59%) din pacienții cu tumoră carcinoidă, insulinoame și glucagonom.

7. Necesitatea evaluării corecte a unei tumori primare sau metastatice îndeosebi unde apare pattern neuroendocrin impune efectuarea de reacții imunohistochimice pentru stabilirea unei conduite corecte terapeutice pre și postoperator.

#### Bibliografie

1. Klöppel G. Tumor biology and histology of neuroendocrine tumors. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 21(1): 15-31.
2. Volante M, Bozzalla-Cassione F, Papotti M. Somatostatin receptors and their interest in diagnostic pathology. *Endocrine Pathology* 2004; 15: 275-292.
3. Klöppel G, Rindi G, Anlitz M, Perren A, Komminoth P. Site specific biology and pathology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Virchows Arch* 2007; 451(Suppl 1): S9-S27.
4. O'Grady HL, Conlon KC. Pancreatic neuroendocrine tumours. *EJSO* 2008; 34: 324-332.
5. Lloyd RV, Mervak T, Schmidt K, Warner TF, Wilson BS. Immunohistochemical detection of chromogranin and neurospecific enolase in pancreatic endocrine neoplasms. *Am J Surg Pathol* 1984; 607-614.
6. Portela-Gomes GM, Grimelius L, Stridsberg M. Immunohistochemical and biochemical studies with region-specific antibodies to chromogranins A and B and secretogranins II and III in neuroendocrine tumors. *Cell Mol Neurobiol* 2010; 30: 1147-1153.
7. Lloyd RV. Practical markers used in the diagnosis of neuroendocrine tumors. *Endocr Pathol* 2003; 14: 293-301.
8. Azzoni C, Bottarelli L, Cecchini S, Lagrasta C, Pizzi S, D'Adda T, Tamburini E, Rindi G, Bordi C. Involvement of HER-2/neu and metastasis – related proteins in the development of ileal neuroendocrine tumors. *Virchows Arch* 2011; 458: 525-536.

9. Williams ED, Sandler M. The classification of carcinoid tumors. *Lancet* 1963; I: 238-239.
10. Hemminki K, Li X. Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors. A nationwide epidemiologic study from Sweden. *Cancer* 2001; 92: 2204-2210.
11. Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13715 tumors carcinoide. *Cancer* 2003; 97: 934-959.
12. Klöppel G, Clemens A. The biological relevance of gastric neuroendocrine tumors. ?? *J Biol Med* 1996; 69: 69-74.
13. La Rosa F, Sessa F, Capella C. Prognostic criteria in nonfunctioning pancreatic endocrine tumours. *Virchows Archiv* 1996; 429: 323-333.