

Claves en el diagnóstico histopatológico de los TNE-GEP

Enzo Domenichini

Jefe de Patología del Instituto Alexander Fleming. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Los tumores Neuroendócrinos (TNE) constituyen desde un punto de vista morfológico y funcional una familia de neoplasias heterogéneas que pueden originarse virtualmente en todos los órganos y tejidos, incluidos aquellos donde normalmente no se detectan células neuroendócrinas precursoras.

Una gran parte de estos tumores poseen un amplio rango fenotípico que desde la histopatología se manifiestan de modo diverso, según presenten características epiteliales (por ejemplo, tumores carcinoides), neurales (neuroblastomas, paragangliomas) o una combinación de ambos fenotipos.

Los TNE se hallan conformados por una amplia gama de neoplasias con un elemento común: la

célula neuroendócrina como promotor absoluto.

El origen embriológico de la célula neuroendócrina ha sido motivo de discusión y controversias en estas últimas décadas entre los diferentes grupos de investigadores. No obstante, los estudios genéticos y biomoleculares de reciente desarrollo indican la existencia de vías de señalización y patrones de diferenciación en la génesis de la célula neuroendócrina semejantes en varios aspectos al desarrollo de las neuronas del sistema nervioso central (SNC). Además, la expresión inmunofenotípica de marcadores neurales comunes es observada tanto en las células neuroendócrinas normales como en su contraparte tumoral, lo cual refuerza la idea de ancestros moleculares semejantes en sus orígenes. En

estos últimos años se han intentado desarrollar nuevas miradas taxonómicas a través de clasificaciones que intentan unificar características morfológicas combinadas con la detección de cinética celular y expresión molecular con el fin de aplicar herramientas diagnósticas más certeras y fiables para evaluar factores pronósticos y predictivos destinados a la aplicación de nuevas terapéuticas.

El advenimiento de métodos basados en la detección de receptores a somatostatina tanto en el material de biopsia como en el diagnóstico por imágenes abre un nuevo espacio para la investigación clínica y básica de estas complejas neoplasias.

La célula neuroendócrina y el sistema neuroendócrino difuso. Una reseña histórica

La era de la histología

En todas las épocas ninguna actividad humana escapó a las diversas influencias de la situación histórico-social que le tocó vivir.

A mediados del siglo XIX, en plena expansión del capitalismo post-revolución industrial desarrollado predominantemente en Inglaterra, la necesidad de explorar nuevas tinturas y colorantes en la industria textil originó la base de los nuevos materiales para la coloración de tejidos biológicos. Estas nuevas tecnologías permitieron a los primigenios histólogos descubrir nuevas células, a partir de la afinidad tintorial de los elementos químicos que éstas poseían. Es así que nombres relevantes como Kulchitzky y Heidenhain, entre otros,^{1,2} detectaron afinidad por las sales de plata y cromo en "células claras" del tracto digestivo, sin poder definir con exactitud cuál era su rol.

En 1906 Ciaccio³ introdujo el término de "célula enterocromafín" a las originalmente detectadas por Kulchitzky en 1897.

En 1914 Gosset y Pierre Masson, utilizando impregnaciones argénticas, demostraron su localización en los tumores carcinoides⁴ sugiriendo que estos elementos celulares eran el origen de la neoplasia.⁵

Recién en 1938, Feyrter, profesor de patología en Danzig, Polonia, propuso que los tumores carcinoides derivaban del conjunto de células descubiertas, denominando a esta masa celular extendida del cardias al ano como "sistema neuroendócrino difuso".⁶

La era de la bioquímica

Rapport en 1948 y Erspamer en 1952, en sucesivos experimentos, posibilitaron el aislamiento de 5 hidroxitriptamina (serotonina) de las células EC del

pulpo, sugiriendo que la serotonina o enteramina era una hormona específica del sistema celular enterocromafín.^{7,8,9}

El curso de las investigaciones se aceleró con el descubrimiento de otros péptidos en cerebro e intestino, como la sustancia P. Estos hallazgos de péptidos comunes a diferentes órganos (SNC y tracto gastrointestinal) permitieron fundamentar con probados logros científicos el concepto de sistema neuroendócrino difuso de Feyrter.⁶

La era de la fusión (patología y bioquímica)

En la década del 60 se produce la aparición de los brillantes trabajos de Anthony Pearse reconociendo que las células endócrinas del tubo digestivo presentan una característica biológica particular, que es la capacidad de capturar precursores de aminas (como el Triptofano), decarboxilarlos y obtener como resultado final aminas biógenas. Es así como Pearse define a esta población celular como perteneciente a un sistema bioquímico común, o *Amine Precursor Uptake and Decarboxylation Cells* (Sistema APUD).¹⁰

La principal función de este nuevo grupo celular es producir y secretar péptidos volcando su secreción a la circulación (mecanismo endócrino) y en su periferia inmediata (sistema parácrino). El hallazgo de péptidos comunes en tubo digestivo y cerebro, con características bioquímicas tipo APUD, permitió que en 1973 Pearse desarrollase una teoría embriológica, la cual refería que todas las células endócrinas derivaban de la cresta neural, migrando durante el desarrollo embrionario a los diferentes órganos y sistemas.¹¹

La era de la embriología

Teoría clásica

A partir de las teorías de Pearse sobre la migración de las células neuroendócrinas desde la cresta neural (placa neural) que normalmente da origen a las células C tiroideas, la médula adrenal y las células ganglionares de los plexos neurales del Tracto Gastrointestinal, comenzaron a aparecer las primeras controversias.

Fontaine – Perus y Douarin,¹² demostraron que las células de la cresta neural de las aves durante su embriogénesis no llegaban al endodermo del aparato digestivo, mediante un elegante experimento de transposición de tubo neural de dos especies distintas. Esta hipótesis postula que las células endócrinas

del tubo digestivo se originan en el epitelio endodérmico cuando éste se estructura en el período final de la gastrulación. Obviamente, las nuevas evidencias logradas por estos investigadores anulaban en parte los preceptos iniciales de Pearse. No obstante, lo que no alcanzaban a explicar era la existencia de marcadores comunes en la neuronas del SNC y las células endócrinas del tubo digestivo (substancia P, somatostatina, CCK).

Teoría evolutiva

La demostración de la presencia de péptidos comunes al cerebro y al intestino fue avalada por los estudios realizados en organismos primitivos. Estos mediadores químicos (péptidos reguladores) fueron detectados en estructuras neurales de invertebrados (protostomian) con una distribución semejante o análoga a las células endócrinas de los animales superiores. Por ejemplo, en los celenterados el sistema circulatorio es extremadamente pobre, pero posee una importante riqueza de fibras neurosecretoras unidas en una extensa red con neuronas interpuestas que realizan un control del sistema digestivo primitivo, secretando los mismos péptidos (gastrina, CCK, insulina) observados en las células neuroendócrinas del endodermo.¹³ Este hecho reafirma la idea de que estos mecanismos primitivos representan en la escala evolutiva la primera forma de control funcional celular por mensajeros moleculares (péptidos) en los niveles inferiores de la evolución y fortalece la idea de un ancestro neural común en el origen del sistema neuroendócrino difuso.^{14,15}

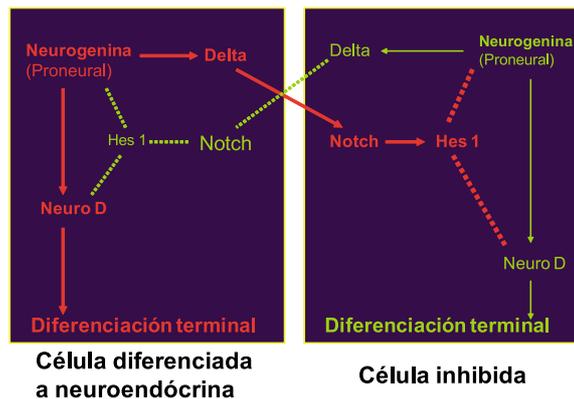
Teoría molecular (una fusión de ideas previas):

Los estudios de los elementos enteroendócrinos de animales inferiores como los celenterados sugieren una progresión evolutiva desde células "neurales" a células neurosecretoras, desarrollo observado en otras especies como artrópodos, moluscos, invertebrados y vertebrados inferiores.

El mecanismo molecular común, observado en la activación del endodermo embrionario a partir de *stem cells*, es la aparición de genes proneurales observados en especies muy primitivas como los eumetazoos.¹⁶ Los genes proneurales más conocidos son la neurogenina 3, neuro D y MASH. Las vías de señalización más comunes donde intervienen estos genes (capaces de desarrollar una neurona motora del SNC como una célula productora de gastrina) son, entre otras, la de NOTCH o vía de señalización de inhibición lateral de NOTCH.¹⁷ Una explicación sencilla de

Figura 1. Inhibición lateral mediada por la vía de señalización de Notch. Los genes proneurales activados (resaltados en negrita) diferencian a la célula de la izquierda como neuroendócrina. Consecuentemente los mismos genes se inactivan en la célula adyacente (en gris) transformándola en secretora. Modificado de Skipper M, Lewis J. *Nature Genet* 2000;24:3-4.

VIAS DE SEÑALIZACIÓN TIPO NOTCH. INHIBICIÓN LATERAL



estos mecanismos se halla representada en la Figura 1.

La célula primitiva endodérmica posee estos genes proneurales que a través de mecanismos promotores e inhibidores producirá una célula con capacidad neuroendócrina, actuando a su vez sobre la célula adyacente por los mismos genes proneurales, desarrollando una célula secretora no endócrina. Estos fenómenos se desarrollan en todos los niveles de la evolución: durante la embriogénesis, en el curso de la vida activa y como elementos promotores de tumores a través de mecanismos mutacionales e inducción de anomalías cromosómicas.

Génesis de los tumores neuroendócrinos

Los cambios moleculares que favorecen la replicación de una célula endócrina son representados a través del microscopio por los fenómenos secuenciales de hiperplasia-displasia-neoplasia. La inactivación del gen MEN 1 favorece en los ratones la aparición de insulinomas y tumores de tiroides e hipofisis. Estos modelos murinos son útiles para estudiar la secuencia de aparición de tumores en humanos con síndrome de Neoplasias Endócrinas Múltiples tipo 1 (MEN 1). Habitualmente los cambios moleculares, frecuentemente observados en la génesis tumoral, son la inactivación de genes como el MEN 1 y el VHL con la consecuente pérdida de heterocigocidad (LOH) en el material cromosómico relacionado, aumentando con estos últimos mecanismos la

agresividad neoplásica. A su vez, la inactivación de genes supresores como el Rb permite la activación de ciclinas kinasa-dependientes que promueven la replicación celular ilimitada. Los estudios sobre el gen supresor tumoral MEN 1 han revelado una nueva vía de acción tumorogénica, reproducible en animales de experimentación, que permitirían una nueva visión y comprensión en la génesis de estas complejas neoplasias, requisito esencial para el diagnóstico y las futuras estrategias terapéuticas.¹⁸

Identificación de tipos celulares neuroendócrinos y clasificaciones

Pocas áreas en la patología quirúrgica contemporánea han generado tantas controversias como cuando fue necesario definir a las células neuroendócrinas y clasificar a los tumores que en éstas se originan.

Muchos investigadores, basados en el origen embriológico y en las características bioquímicas de la célula neuroendócrina y sus tumores, introdujeron términos como "neurocristoma" o "APUDomas". No obstante, otros estudios demostraron que la capacidad de producir aminas biógenas no es constante en todos los tumores neuroendócrinos, así como se considera actualmente falso el origen de todas las células neuroendócrinas en la cresta neural.^{11,12}

Posteriormente, con el objeto de favorecer clasificaciones sustentadas en las características funcionales de los tumores fue necesario definir las células neuroendócrinas según su producto de secreción.

En el simposio de Wiesbaden en 1969 se delineó la primera clasificación de células endócrinas digestivas, revisada posteriormente en Bologna en 1973.¹⁹

El número inicial de siete subtipos celulares definidos previamente es duplicado en el Congreso de Lausanne en 1979.²⁰ Finalmente, estas clasificaciones son reordenadas y aceptadas en el *meeting* de Los Ángeles en 1980²¹ aplicando criterios de inmunotipificación y ultraestructura, con una nueva modificación en 1990 donde se ejemplifica la distribución, nomenclatura y producción hormonal de las células endócrinas detectadas.²²

Sucesivamente, nuevos candidatos a hormonas digestivas fueron agregándose y descartándose a medida que avanzábamos en el conocimiento del sistema neuroendócrino difuso y en las variaciones de la población celular neuroendócrina según las patologías asociadas en el tracto digestivo (observadas en gastritis y duodenitis crónica).^{22,24}

El objetivo de estas clasificaciones era unir el

hallazgo del producto peptídico celular determinado por inmunohistoquímica con la presencia y/o ausencia de un síndrome clínico asociado. No obstante, en muchos casos un igual producto hormonal podía detectarse en una neoplasia con un comportamiento "benigno", así como en otras francamente maligno. Por ejemplo, se denominaba "corticotropinoma" tanto al tumor hipofisario como a un tumor carcinoide o a un carcinoma neuroendócrino de alto grado de pequeñas células de páncreas o pulmón, secretantes de ACTH que generaban un síndrome de Cushing.

En los últimos años nuevas clasificaciones de tumores neuroendócrinos pusieron énfasis en el grado de diferenciación del fenotipo neoplásico basándose en el potencial maligno. Por ejemplo, la conducta biológica de un tumor carcinoide podría variar con la localización tumoral, su tamaño o el índice de proliferación (Ki-67). Estos nuevos ítems, junto con otras asociaciones como los datos de invasión vascular, cambios biomoleculares tumorales, presencia de receptores a somatostatina y detección de marcadores neuroendócrinos como la cromogranina (en tejidos y sangre periférica), son variables imprescindibles en la recategorización de los tumores neuroendócrinos.²⁵

Estos nuevos enfoques volcados en las recientes clasificaciones²⁶ han permitido sucesivas reuniones de Consenso en Europa²⁷ y América Latina,²⁸ las cuales permiten acrecentar los conocimientos de la conducta de estas heterogéneas neoplasias con el fin de lograr terapias bien definidas para cada caso en particular y dirigidas fundamentalmente a los nuevos blancos moleculares (receptores de somatostatina o vía de m-Tor).

Referencias

1. Heidenhain R. Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch Mikr Anat 1870;6:368.
2. Kulchitsky N. Zur Frage über den Bau Darmkanals. Arch Microsk Anat 1897;49:70.
3. Ciaccio M. Sur une nouvelle espèce cellulaire dans les glandes de Lieberkühn. C R Seances Soc Biol Fil (Paris) 1906;60:76.
4. Obendorfer S. Karzinoide tumoren des dunndarms. Z Pathol (Frankfurt) 1907;1:426.
5. Masson P. La glande endocrine de l'intestin chez l'homme C R Acad Sci 1914;52:158.
6. Feyrter F. Über diffuse endokrine epitheliale Organe. Zentralbl Innere Med 1938;31:545.
7. Rapport M, Green A, Page I. Partial purification of the vasoconstrictor in beef serum. J Biol Chem 1948;174:735.
8. Erspamer V, Asiro B. Identification of enteramine, the specific hormone of the EC cell system as 5 - OHT. Nature 1952;169:800.

9. Erspamer V, Asiro B. Isolation of enteramine from extracts of posterior salivary glands of *Octopus vulgaris*. *J Biol Chem* 1953;200:311.
10. Pearse A. 5-hydroxytryptophan uptake by dog thyroid "C" cells and its possible significance in polypeptide hormone production. *Nature* 1966;211:598.
11. Pearse A, Polak J, Rost F, et al. Demonstration of the Neural (APUD) cells in the avian carotid body using a cytochemical marker system. *Histochemistry* 1973;34:191.
12. Fontaine J, Le Douarin N. Analysis of endodermal formation in the avian blastoderm by the use of Quail - chick Chimeras. The problems of the neuroectodermal origin of the cells of the APUD series. *J Embriol Exp. Morphol* 1977;41:209.
13. Schmechel DE, Brightman MW, Marangos PJ. Neurons Switch from non neuronal enolase to neuron specific enolase during differentiation. *Brain Res* 1980;190:195.
14. Dockray GJ. Evolutionary relationships of the Gut hormones. *Fed Proc* 1979;38:2295.
15. Van Noorden S, Falkmer S. Gut – islet endocrinology. Some evolutionary aspects. *Invest Cell Pathol* 1980;4:21.
16. Hayakawa E, Fujisowa C, Fujisowa T. Involvement of Hydra gene CnAsh in the differentiation pathway of sensory neurons in the tentacles. *Dev Genes Evol* 2004;214:486.
17. Ohlstein B, Spradling A. Multipotent *Drosophila* intestinal stem cells specify daughter cell fates by differential Notch signaling. *Science* 2007;315:988.
18. Ohta S, Lai EW, Taniguchi S, Tischler AS, Alesci S, Pacak K. Animal models of pheochromocytoma including NIH initial experience. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1073:300.
19. Solcia E, Pearse A, Grube D, Kabayeshi S. Revised Wiesbaden classification of Gut endocrine cells. *Rendic Gastroenterol* 1973;5:13.
20. Solcia E, Polak J, Pearse A, et al. In: Bloom SR, ed. *Gut Hormones* (2nd ed). Edinburgh: Churchill Livingstone 1978;40.
21. Solcia E, Polak J, Larsson L, et al. Human GEP endocrine-paracrine cells. In: *Cellular Basis of Chemical Messengers in the Digestive System*. New York: Academic Press; 1981.
22. Wilander E, Falkner S. The Endocrine Cell Population. In Whitehead R ed, *Gastrointestinal and Oesophageal Pathology* (2nd ed), Edinburgh. Churchill - Livingstone; 1990:57.
23. Kaplan - Ikonnicoff L, Domenichini E. Localización inmunohistoquímica del Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) y/o Urogastrona: dos polipéptidos presentes en el aparato digestivo. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1980;10:189.
24. Domenichini E, Fontan A, Rubio HH, et al. G cells and gastrinemia in Chronic Non - Specific Bulbitis. *Scand J Gastroenterol* 1989;167:S21.
25. Solcia E, Klöppel G, Sobin LH. *Histological typing of endocrine tumors*. (2nd ed.) WHO; Berlin: Springer; 2000.
26. Klöppel G, Perren A, Heitz PU. The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification. *Ann NY Acad Sci* 2004;13:1014.
27. Rindi G, Klöppel G, Ahlman H, et al. Frascati Consensus Conference. TNM staging of foregut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006;449:395.
28. Costa F, Domenichini E, Garavito G, Medrano R, Mendez G, O'Connor J, Rojas W, Torres S, Younes RN, Dellafave G and Öberg K. Management of Neuroendocrine tumor: A meeting of Experts from Latin America. *Neuroendocrinology* 2008;88:235.
29. Taal BG, Visser O. Epidemiology of Neuroendocrine tumors. *Neuroendocrinology* 2004;80(Suppl 1):S3-S7.

Referencias recomendadas

- Reubi JC. Peptide receptors as molecular targets for cancer diagnosis and therapy. *Endocr Rev* 2003;24:389-427.
- Lamberts SWJ, Krenning EP, Reubi JC. The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev* 1991;12:450-482.
- Patel, YC. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol* 1999;20:157-198.
- Guillermet-Guibert J, Lahlou H, Pyronnet S, Bousquet C and Susini C. Somatostatin receptors as tools for diagnosis and therapy: molecular aspects. *Best Practice & Research. Gastroenterology* 2005;19:535-551.
- Yamada Y, Reisine T, Law SF, Ihara Y, Kubota A, Kagimoto S, Seino M, et al. Somatostatin receptors, an expanding gene family: cloning and functional characterization of human SSTR3, a protein coupled to Adenyl cyclase. *Mol Endocrinol* 1992;6:2136-2142.
- Reubi JC, Laissue J, Krenning E, and Lamberts SW. Somatostatin receptors in human cancer: incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1992;43:27-35.
- Vikić-Topić S, Raisch KP, Kvolis LK, and Vuk-Pavlović S. Expression of somatostatin receptor subtypes in breast carcinoma, carcinoma tumor, and renal cell carcinoma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1995;80:2974-2979.
- Reubi JC, Schaefer JC, Laissue J and Waser B. Somatostatin receptors and their subtypes in human tumors and in peritumoral vessels. *Metabolism* 1996;45:39-41.
- de Herder WW, van der Lely AJ and Lamberts SW. Peptide receptors in gut endocrine tumours. *Bailliere's Clinical Gastroenterology* 1996; 10:571-587.
- Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL and Bussolati G. Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumours. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Archiv* 2002;440:447-461.
- Krenning EP, Valkema R, Kwekkeboom DJ, et al. Somatostatin receptor scintigraphy. In: *Freeman LM, ed. Nuclear Medicine Annual*. New York: Raven Press; 1995. pp1-50.
- Hunyady B, Hipkin RW, Schonbrunn A, and Mezey E. Immunohistochemical localization of somatostatin receptor SST2a in the rat pancreas. *Endocrinology* 1997;138: 2632-2635.
- Kumar U, Sasi R, Suresh S, et al. Subtype selective expression of the five somatostatin receptors (hSSTR1-5) in human pancreatic islet cells. *Diabetes* 1999;48:77-85.
- Reubi JC, Kvolis LK., Waser B, et al. Detection of somatostatin receptors in surgical and percutaneous needle biopsy samples of carcinoids and islet cell carcinomas. *Cancer Res* 1990;50:5969-5977.
- Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Bussolati G, et al. Expression of somatostatin receptors types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. *Virchows Arch* 2002;440:461-475.
- Kulaksiz R, Eissele R, Rössler D, Schulz S, Höllt V, Cetin Y, Arnold R. Identification of somatostatin receptor subtypes 1,2a,3 and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut* 2002;50:5260.
- Reubi JC, Horisberger U, Essed C, Jeeckel J, Klijn, JGH, Lamberts SWJ. Absence of somatostatin receptors in human exocrine pancreatic adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1987;95:760-763.