



**GRUPPO DI STUDIO**

**TUMORI RARI E SARCOMI**

**TUMORI NEUROENDOCRINI:  
DIAGNOSI PATOLOGICA, GRADING E  
STADIAZIONE**

**A cura di:**

**Mauro Papotti**

**Marco Volante**

**Guido Rindi**

**Il documento è stato valutato e validato dai componenti della:**

*Sezione Regionale della Società Italiana di Anatomia patologica*

- *SIAPEC* -

&

**da tutto il gruppo di studio sui TUMORI RARI E SARCOMI così composto:**

*Aimaretti Gianluca, Aliberti Sandra, Ardissonne Francesco, Arvat Emanuela, Baccega Massimo, Birocco Nadia, Boglione Antonella, Caliendo Virginia, Capussotti Lorenzo, Casadio Caterina, Cavallo Antonio, Comandone Alessandro, Cosimi Maria Fabia, Crocellà Lucia, De Angelis Claudio, De Polis Paolo, De Simone Michele, Fasolis Giuseppe, Filosso Pierluigi, Fontana Dario, Franzone Paola, Galizia Danilo, Galliano Diego, Gallo Marco, Garetto Ferdinando, Graziani Carlo, Grignani Giovanni, Grosso Federica, Linari Alessandra, Lista Patrizia, Macripò Giuseppe, Milanesi Enrica, Mosca Alessandra, Ocelli Marcella, Papotti Mauro, Pia Francesco, Piana Raimondo, Picciotto Franco, Piovano Elisa, Pira Enrico, Pisacane Alberto, Piovesan Alessandro, Razzore Paola, Rena Ottavio, Ruffini Enrico, Sandrucci Sergio, Valente Guido, Volante Marco, Varvello Francesco, Zola Paolo.*

## **Indice**

<b>Premessa</b> .....	<b>pag. 4</b>
<b>Caratterizzazione morfologica</b> .....	<b>pag. 4</b>
<b>Immunoprofilo</b> .....	<b>pag. 5</b>
<b>Grading</b> .....	<b>pag. 6</b>
<b>Staging</b> .....	<b>pag. 7</b>
<b>Profilo genetico</b> .....	<b>pag. 7</b>

## **Bibliografia essenziale**

<b>Tabella 1: Classificazione morfologica e grading (secondo l’OMS) [Bosman 2010]</b>	<b>pag. 11</b>
<b>Tabella 2: Marcatori per la caratterizzazione di neoplasie neuroendocrine GEP</b>	<b>pag. 11</b>

## **Premessa**

La conferma diagnostica isto-citopatologica è necessaria ed è considerata requisito essenziale (gold standard) per le neoplasie neuroendocrine (NEN) [Obergh 2012; Ramage 2012]. I casi di NEN dovrebbero essere rivisti da un panel di esperti patologi all'interno di gruppi multidisciplinari di diagnosi e cura, con speciale riferimento ai tumori con aspetti peculiari o parametri controversi sia morfologici, sia di grading o di staging [Ramage 2012].

Viene qui proposto uno schema riassuntivo dell'approccio diagnostico delle NEN, comprensivo di tutte le sedi gastroenteropancreatiche (GEP), secondo la classificazione OMS del 2010 [Bosman 2010] e le recenti evidenze di letteratura. La classificazione OMS del 2010 considera tutte le NEN come potenzialmente maligne e suggerisce che siano classificate in base a sede, tipo di differenziazione, grado e stadio di malattia (oltre alla eventuale caratterizzazione della produzione ormonale), definendo i criteri applicativi per tale iter diagnostico [Bosman 2010; Vinik 2010; Boudreaux 2010; Ramage 2012] (Tabella 1).

La classificazione è specificamente intesa per neoplasie asportate chirurgicamente, ma può venire utilizzata anche in campioni citologici o bioptici, seppur con alcuni limiti applicativi (ad esempio definizione del grading in piccoli campioni di NEN ben differenziate).

## **Caratterizzazione morfologica**

Le sedi in cui si applica la classificazione OMS del 2010 comprendono esofago, stomaco, duodeno, digiuno, ileo, appendice, colon-retto, regione ampollare, pancreas e colecisti.

Le NEN del tratto GEP includono forme ben differenziate (indicate come tumore neuroendocrino, NET) e forme scarsamente differenziate (indicate come carcinoma neuroendocrino, NEC). Le prime presentano una crescita ben differenziata, "organoide" (a nidi, trabecole oppure solida) con minime atipie, mentre le seconde hanno solitamente crescita diffusa, solida, con estesa necrosi e marcate atipie citologiche. Nei NEC sono riconosciuti due gruppi, rispettivamente di piccole e di grandi cellule, con morfologia analoga alle corrispettive controparti polmonari, ma con frequenza inversa (in area GEP fino al 75% dei casi sono NEC di grandi cellule) [Bosman 2010; Vinik 2010; Caplin 2012].

All'interno di tale distinzione dicotomica (NET vs NEC), ulteriori specificazioni derivano dalla successiva definizione del grado (valutazione di mitosi e indice Ki67) e dello stadio TNM (estensione della invasione neoplastica), mentre altri parametri non sono obbligatoriamente valutati. Tuttavia, escludendo quelli impiegati per la stadiazione, una serie di dati viene utilmente riportata in

checklist diagnostiche che comprendono: dimensioni del tumore, multicentricità, presenza di invasione vascolare, capsulare o perineurale, necrosi, stato dei margini di resezione chirurgica, distanza del tumore dai margini stessi, presenza di componenti neoplastiche associate (forme miste di carcinomi neuroendocrini ed adenocarcinoma, MANEC) [Kulke 2013].

A queste si aggiunge la ricerca di eventuali lesioni (o precursori) nel tessuto peritumorale. Ciò è raccomandato soprattutto nello stomaco, che può presentare foci di iperplasia lineare o nodulare di cellule ECL nel contesto di gastrite cronica atrofica del corpo gastrico [Bosman 2010; DelleFave 2012].

I carcinoidi mucinosi/ad anello con castone (goblet cell carcinoid), più frequenti in sede appendicolare, sono oggi classificati come adenocarcinomi mucinosi e vengono trattati di conseguenza [Bosman 2010].

### **Immunoprofilo**

L'identificazione del fenotipo neuroendocrino prevede l'impiego di specifici marcatori neuroendocrini. Tra questi, cromogranina A e sinaptofisina appaiono i più attendibili per sensibilità e specificità, unitamente a CD56 (N-CAM), PGP 9.5, NSE e neurofilamenti (Tabella 2).

Le forme tumorali poco differenziate possono mostrare espressione di marcatori neuroendocrini ridotta o assente. In tali casi, è utile la colorazione per citocheratina di alto peso molecolare (tipi CK1,5,10,14), che è classicamente assente nei tumori neuroendocrini, mentre colora i carcinomi di natura non-neuroendocrina [Sturm 2003]. Alternativamente, i carcinomi neuroendocrini poco differenziati esprimono a livello nucleare il fattore di crescita hASH1 (human achete scute homolog-1), che nel corso dello sviluppo guida la differenziazione neuroendocrina in cellule polmonari, gastroenteriche e di altre sedi, ed è assente in cellule neuroendocrine dell'adulto e solo occasionalmente espresso in NET ben differenziati [LaRosa 2013].

A fini classificativi (definizione del grading) lo schema dell'OMS 2010 [Bosman 2010] impone obbligatoriamente l'immunocolorazione con Ki67 per definire l'indice di proliferazione cellulare (si veda sotto).

Le NEN comprendono tumori funzionanti e non-funzionanti (distinzione valida soprattutto per il pancreas) [Vinik 2010]. La definizione del profilo di produzione ormonale (insulina, glucagone, somatostatina, VIP, gastrina, serotonina, calcitonina) è utile complemento alla diagnosi (soprattutto per NEN pancreatiche e duodenali), ancorché la dimostrazione di prodotti ormonali non sia sinonimo di secrezione ormonale e non rappresenti pertanto prova di funzionalità della NEN, né

autorizzi l'utilizzo a fini diagnostici di termini associati a singoli ormoni (ad es insulinoma, gastrinoma, etc) [Bosman 2010, Oberg 2012].

Per definire l'origine di NEN a primitività occulta possono essere utili fattori trascrizionali quali TTF-1 (origine tiroidea o polmonare, specialmente in forme di alto grado), CDX-2 (origine intestinale o colo-rettale), Isl- 1 (origine pancreatica), PDX-1 (origine pancreatica o duodenale) [Pape 2012]. Le informazioni ottenute dall'uso di questi marcatori vanno comunque interpretate in un contesto clinico appropriato, essendovi limiti in termini sia di sensibilità (ad esempio, espressione di TTF-1 solo in una minoranza di carcinoidi polmonari), sia di specificità (ad esempio, espressione aberrante di TTF-1 e CDX-2 in forme scarsamente differenziate di sedi rispettivamente extrapolmonari o extraintestinali).

*Fattori predittivi* - La ricerca immunocistochemica di recettori per la somatostatina è considerata opzionale, al momento. Ove richiesta, è ristretta soprattutto al tipo 2 (ed eventualmente al 3 e 5), che sono i recettori bersaglio dell'octreotide, e viene eseguita con anticorpi specifici (meglio i monoclonali) ed interpretata come positiva in presenza di un pattern di reattività di membrana [Volante 2007; Pavel 2012; Korner 2012]. In questo caso è consigliabile l'uso di schemi di valutazione, *score*, secondo proposte pubblicate e dimostrate efficaci [Volante 2007].

### **Grading**

Lo schema dell'OMS prevede la valutazione di conta mitotica e indice di proliferazione con Ki67 (utilizzando l'anticorpo monoclonale MIB1) per definire tre gradi di differenziazione della NEN (Tabella 1). Il cut off proposto per distinguere tumori di grado 1 rispetto a grado 2 è di 2 mitosi /10 campi ad alto ingrandimento (HPF) e 3% di indice Ki67. Una conta mitotica superiore a 20/10HPF e un indice Ki67 superiore a 20% definisce i tumori di grado 3 (solitamente carcinomi neuroendocrini) [Rindi 2006; Bosman 2010]. Si raccomanda di contare le mitosi in 40 HPF in aree di maggiore densità mitotica, e di valutare il Ki67 contando 2000 nuclei in aree di maggiore proliferazione [Caplin 2012].

Mentre il cut-off di Ki67 proposto per i tumori di grado 3 rimane fisso al 20%, recenti evidenze in tumori di basso grado (G1/G2) pancreatici indicano il 5% come più efficace indicatore di incremento di rischio a fini prognostici e per una conseguente più efficace impostazione terapeutica [Scarpa 2010; Rindi et al. 2012].

## **Staging**

La stadiazione delle NENs sottoposte a intervento chirurgico radicale segue lo schema del sistema TNM pubblicato dalla UICC/AJCC (7° edizione) per le singole sedi (ad esempio stomaco, ileo, appendice, colon-retto, pancreas) [Sobin 2009; Kloppel 2010; Araujo 2013]. L'ENETS ha pubblicato un sistema di stadiazione per le NEN delle diverse sedi che è in parte simile a quello dell'UICC, mentre si discosta da questo per le localizzazioni appendicolari e pancreatiche. In queste due ultime sedi, in assenza di evidenze cliniche definitive su quale sia il sistema di stadiazione maggiormente informativo in termini prognostici (si veda sotto: aspetti controversi), è consigliabile applicare entrambi gli schemi ed è raccomandato di indicare da quale schema deriva lo stadio riportato nel referto. Nelle NEN del tratto intestinale inoltre, è raccomandato di indicare comunque la profondità di invasione della parete intestinale (inclusa la superficie sierosa) [Boudreaux 2010].

La valutazione accurata dello stadio è cruciale per le implicazioni terapeutiche. Per tutte le sedi anatomiche esistono parametri di stadio che implicano precise indicazioni terapeutiche ed aree grigie da definire meglio. Per esempio in sede appendicolare, bassi stadi (T1a sec. UICC o T1 sec. ENETS) richiedono la sola appendicectomia, mentre stadi più alti e dimensioni tumorali >2 cm (T2 sec. UICC o T3 sec. ENETS) necessitano di emicolectomia destra (per il rischio di malattia residua o metastasi linfonodali in oltre il 15% dei casi). Gli stadi intermedi, con tumori tra 1 e 2 cm sono utilmente valutati con i due sistemi, identificando sede (base/punta appendice), invasione del meso-appendice (sì/no) o estensione alla sierosa per oltre 3 mm (sec. ENETS) (sì/no). Le prime condizioni di queste tre opzioni suggeriscono emicolectomia destra, per il rischio di malattia residua o metastasi [Bosman 2010; Pape 2012; Grozinsky-Glasberg 2012; Volante 2013].

*Aspetti controversi* - Recenti evidenze indicano che la stadiazione secondo ENETS in NEN pancreatiche risulta superiore allo schema UICC nella possibilità di stratificare i pazienti in gruppi prognosticamente significativi [Rindi 2012]. In sede appendicolare, entrambi gli schemi di stadiazione correlano con la sopravvivenza, e lo schema UICC appare lievemente superiore in termini di significatività statistica [Volante 2013].

## **Profilo genetico**

La Neoplasia Endocrina Multipla di tipo 1 (MEN1) viene riconosciuta dalla presenza di due o più tumori neuroendocrini in sede ipofisaria, pancreatica o paratiroidea (iperplasia). Sedi aggiuntive comprendono il timo e il polmone (carcinoidi) oppure lo stomaco (NET/carcinoidi), nonché la cute (angiomi e lipomi) e la corteccia surrenalica. Il quadro morfologico dei singoli tumori

neuroendocrini in pazienti affetti da MEN1 non differisce da quello dei corrispondenti tumori in contesto sporadico. Un' eccezione è rappresentata dalla diversa presentazione macroscopica, in quanto nelle MEN1 sono molto più comuni i tumori multipli [Bosman 2010; Kulke 2013].

In caso di sospetto di MEN1 o di accertata familiarità per MEN1, viene indicato un test genetico per la mutazione del gene della menina, su sangue periferico o su campioni di tessuto tumorale e peritumorale. Ciò è raccomandato specificamente per NEN gastriche (NET di tipo 2, multipli, associati a S. di Zollinger-Ellison, in assenza di gastrite atrofica) e della regione duodenale (ad es gastrinomi) [Bosman 2010; DelleFave 2012].

Altre malattie genetiche che si associano a sviluppo di NEN includono la malattia di von Hippel-Lindau, la sclerosi tuberosa e la neurofibromatosi di tipo 1. Anche nel sospetto di tali casi è opportuno il ricorso a test genetici appropriati per la mutazione del gene responsabile di malattia [Bosman 2010; Ramage 2012].

### **Bibliografia essenziale.**

1. Araujo PB. et al. Evaluation of the WHO 2010 grading and AJCC/UICC staging systems in the prognostic behavior of intestinal neuroendocrine tumors. *PlosOne* 2013;8:e61538(1-8).
2. Bosman FT. et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Tumors of the Digestive System. IARC Press, Lyon: 2010.
3. Boudreaux JP. et al. The NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the Jejunum, Ileum, Appendix, and Cecum. *Pancreas* 2010;39:753-766.
4. Caplin M. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms: colorectal neuroendocrine neoplasms. *Neuroendocrinology* 2012;95:88-97.
5. Delle Fave G. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with gastroduodenal neoplasms. *Neuroendocrinology* 2012;95:74-87.
6. Grozinsky-Glasberg S. et al. Current size criteria for the management of neuroendocrine tumors of the appendix: are they valid? Clinical experience and review of the literature. *Neuroendocrinology* 2012 Nov 22 [Epub ahead of print].



7. Kloppel G. et al. The ENETS and AJCC/UICC TNM classifications of the neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract and the pancreas: a statement. *Virchows Arch* 2010;456:595-7.
8. Körner M. et al. Somatostatin receptor subtype 2A immunohistochemistry using a new monoclonal antibody selects tumors suitable for in vivo somatostatin receptor targeting. *Am J Surg Pathol* 2012;36:242-52.
9. Kulke M et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: Neuroendocrine tumors. Version 2013, pp 32-35 and 40-43.
10. LaRosa S. et al. Achaete-scute homolog 1 as a marker of poorly differentiated neuroendocrine carcinomas of different sites: a validation study using immunohistochemistry and quantitative real-time polymerase chain reaction on 335 cases. *Hum Pathol* 2013;44:1391-9.
11. Oberg K. et al. Neuroendocrine gastro-entero-pancreatic tumors: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012;23 S7:vii124-30.
12. Pape UF. et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with neuroendocrine neoplasms from the jejunum and the appendix including goblet cell carcinomas. *Neuroendocrinology* 2012;95:135-156.
13. Pavel M. 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. *Neuroendocrinology* 2012;95:157-76.
14. Ramage JK. Et al. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours (NETs). *Gut* 2012;61:6-32.
15. Rindi G. et al. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006;449:395-401.
16. Rindi G. et al. TNM staging of neoplasms of the endocrine pancreas: results from a large international cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:764-77.
17. Scarpa A. et al. Pancreatic endocrine tumors: improved TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients. *Mod Pathol* 2010;23:824-33.
18. Sobin LH. et al. UICC: TNM classification of malignant tumors, 7<sup>th</sup> edition. Wiley-Blackwell, Oxford, 2009.

19. Sturm N. et al. 34BetaE12 expression along the whole spectrum of neuroendocrine proliferations of the lung, from neuroendocrine cell hyperplasia to small cell carcinoma. *Histopathology* 2003;42:156-66.
20. Vinik AI. et al. NANETS consensus guidelines for the diagnosis of neuroendocrine tumor. *Pancreas* 2010;39:713-34.
21. Volante M. et al. Somatostatin receptor type 2A immunohistochemistry in neuroendocrine tumors: a proposal of scoring system correlated with somatostatin receptor scintigraphy. *Mod Pathol* 2007;20:1172-82.
22. Volante M. et al. Tumor staging but not grading is associated to adverse clinical outcome in neuroendocrine tumors of the appendix: a retrospective clinical pathological analysis of 138 cases. *Am J Surg Pathol* 2013;37:606-12.

**Tabella 1: Classificazione morfologica e grading (secondo l'OMS) [Bosman 2010]**

<b><u>Diagnosi</u></b>	<b><u>Grado</u></b>	<b><u>Mitosi</u></b>	<b><u>Ki67</u></b>	<b><u>Differenziazione</u></b>
1. Tumore neuroendocrino	1	<2/10hpf	<3%	Ben differenziato
2. Tumore neuroendocrino*	2	2-20/10hpf	3-20%	Ben/Moderatamente diff.
3. Carcinoma neuroendocrino	3	>20/10hpf	>20%	Poco differenziato
4. Carcinoma misto adeno – neuroendocrino (MANEC)				Poco differenziato**
5. Lesioni iperplastiche e pre-neoplastiche				

*\*rari NET a differenziazione intermedia hanno alto indice mitotico e/o Ki67, pertanto appartengono al grado 3;*

*\*\* in rarissimi casi la componente neuroendocrina può corrispondere a forme di NET G1 o G2.*

**Tabella 2: Marcatori per la caratterizzazione di neoplasie neuroendocrine GEP**

<b><u>Ruolo del marcatore</u></b>	<b><u>Tipo di marcatore</u></b>
Diagnostico di fenotipo neuroendocrino	Cromogranina A, sinaptofisina, CD56
“	(NCAM), NSE, PGP 9.5, neurofilamenti
“ ( <i>negativo in tumori neuroendocrini</i> )	CK alto peso molecolare (1,5,10,14)
“ ( <i>solo per carcinomi NE poco differenziati</i> )	hASH1
Diagnostico di organo di origine	CDX2, Isl1, PDX1, PAX8
Prognostico ( <i>per il grading</i> )	Ki67
Predittivo ( <i>per terapia con analoghi somatostatina</i> )	Recettore somatostatina tipo 2A (SSTR2A)
Genetico	Geni di MEN1, VHL, TSC, NF1