

| Svensk Förening för Patologi – Svensk Förening för Cytologi | | | |
|--|-----------------------|----------------------------------|----------------------|
| Dokumentnamn: Neuroendokrina neoplasier i GI och pancreas | | | |
| Framtagen av: Ola Nilsson GI KVA | Utgåva: 4.1 | Fastställt: 2020-06-03 | Sida: 1(5) |

Neuroendokrina neoplasier i mag-tarmkanal och pancreas

I. Anvisningar för provtagarens hantering av provet

Biopsier fixeras i 10% neutral buffrad formalin (4% formaldehyd). Orientering av biopsierna är inte nödvändig. Vid diagnostik av endokrina tumörer i ventrikel rekommenderas utöver biopsier från tumören, även tre biopsier från tumörfri corpuslemhinna och tre biopsier från tumörfri antrumslemhinna.

Operationspreparat (resektat) från magtarmkanal fixeras i 10% neutral buffrad formalin (4% formaldehyd). Preparatets orientering anges genom markering exempelvis genom sutur- eller tuschmarkering. Små tumörer i slemhinnor bör markeras för att underlätta identifiering. Pankreasresektat fixeras i sin helhet och resektionsytor markeras.

II: Anamnestisk remissinformation

Inremitterande anger indikation för provtagningen (sjukhistoria, frågeställning). Eventuella hormonella symptom och förhöjda hormonnivåer, samt eventuell ärftlighet för endokrina tumörsjukdomar anges. Relevanta radiologiska undersökningar och eventuella tidigare cytologiska/histologiska undersökningar anges. Typ av ingrepp (endoskopi, operation), liksom lokalisering, utseende och storlek på tumör(er) anges.

III. Utskärningsanvisningar

Biopsier mäts och bäddas i sin helhet. Operationspreparat (resektat) skärs enligt KVA dokument för icke-endokrin tumör på samma lokal. För operationspreparat från ventrikel, duodenum, jejunum, ileum och kolorektum anges: resektatets längd, primärtumörens(ernas) lokalisering, storlek i tre dimensioner (millimeter) och avstånd till närmsta resektionsrand. Skivor tas från proximal och distal resrand, tumör(er) och regionala lymfkörtlar. Minimikrav på antal undersökta lymfkörtlar är inte definierat, men man bör eftersträva minst 12 lymfkörtlar. Snitt från tumör tas i området för maximalt infiltrationsdjup så att relation till muscularis propria, mesenteriell fettväv, och serosaytor kan bedömas. Storsnitt kan vara till god hjälp. För samtliga typer av resektat gäller att slemhinnan bör undersökas noggrant då primärtumören ofta är liten och multicentrisk tumörväxt är vanlig. Pankreasresektat mäts i tre dimensioner. Tumörens storlek anges i tre dimensioner (millimeter) samt minsta avstånd till närmsta resektionsyta (millimeter).

IV. Analyser

Biopsier och utskurna vävnadsblock paraffininbäddas och färgas med hematoxylin-eosin. Biopsier och vävnadsblock från ventrikelslemhinna färgas även med AB-PAS och Giemsa. Tumörsnitt skall färgas immunhistokemiskt för chromogranin A, synaptophysin och Ki-67 (MIB1) för att fastställa tumörens neuroendokrina differentiering och som underlag för gradering. För att skilja högt differentierade tumörer (NET) från lågt differentierade cancrar (NEC) kan färgning för p53 och Rb vara till hjälp (långt differentierade tumörer uttrycker ofta p53 men har förlust av Rb). Beroende på klinisk frågeställning, tumörlokalisering och mikroskopiska fynd, kan ytterligare immunhistokemiska analyser behöva utföras. Vid känd primärlokal kan färgning för specifika hormoner vara aktuellt (Tabell I). Vid metastatisk tumörsjukdom kan färgning för specifika hormoner samt CDX2, PDX, PAX8 och TTF1 ge vägledning om primärlokal. Färgning för cytokeratin har betydelse för att säkerställa tumörens epiteliella differentiering medan färgning för cytokeratin-subtyper har ett begränsat värde för bestämning av den neuroendokrina tumörens ursprung. Om en tumörs neuroendokrina differentiering är oklar (exempelvis negativ färgning för chromogranin A och synaptophysin) kan färgning för ytterligare neuroendokriner vara aktuell, exempelvis CD56, SV2 och PGP9.5. Färgning för NSE har igen plats i diagnostiken av endokriner tumörer eftersom denna markör har en låg specificitet. I de fall laboratoriet saknar rekommenderade antikroppar bör fallet skickas för konsultation.

Tabell 1. Rekommenderade antikroppar vid diagnostik av endokriner neoplasier i magtarmkanal och pancreas efter primärtumörens lokalisering. Chromogranin A, synaptophysin och Ki67 är obligatoriska antikroppar vid frågeställningen neuroendokriner neoplasi.

| <u>Tumörlokal (endokriner celltyp)</u> | <u>Antikroppar</u> |
|--|---|
| Ventrikel (ECL, EC, G) | chromogranin A, synaptophysin, Ki67 vesikulär monoamintransportör typ 2 (VMAT2) serotonin gastrin |
| Duodenum, övre jejunum (EC, G, D) | chromogranin A, synaptophysin, Ki67 gastrin somatostatin serotonin S100 |
| Ileum, appendix, kolon, rectum EC, L) | chromogranin A, synaptophysin, Ki67 serotonin Enteroglukagon CDX2 |
| Pancreas (G, A, B, D, PP) | chromogranin A, synaptophysin, Ki67 gastrin insulin glukagon somatostatin pancreaspolypeptid (PP) PDX, PAX8 |

V. Information i remissens svarsdel

Makrobeskrivningen följer utskärningsanvisningarna ovan.

Klassifikationssystemen för neuroendokrina neoplasier skiljer sig åt beroende på det organsystem som tumören har sitt ursprung i. Ett enhetligt system för samtliga neuroendokrina neoplasier saknas således (1). Neuroendokrina neoplasier i magtarmkanal och pankreas skall klassificeras enligt WHO 2017 (2) respektive WHO 2019 (3). Neuroendokrina neoplasier indelas i följande huvudgrupper:

Neuroendokrina tumörer (NET), neuroendokrina carcinom (NEC) och blandad neuroendokrina-icke-neuroendokrin neoplasi (MiNEN).

Neuroendokrin tumör (NET) är en högt differentierad epitelial neoplasi, med morfologiska och immunhistokemiska tecken på neuroendokrin differentiering, oftast med organoitt växtmönster och uniforma kärnor med grovt kromatin. Tumörgraden kan vara låg (G1), intermediär (G2) eller hög (G3).

Neuroendokrint carcinom (NEC) är en lågt differentierad epitelial neoplasi, med morfologiska och immunhistokemiska tecken på neuroendokrin differentiering. Tumörerna kan vara av småcellig typ (SCNEC), vilken kännetecknas av tumörceller med sparsam cytoplasma och avlånga kärnor med tät, fingranulerat kromatin och ”nuclear moulding”. Tumörerna kan också vara av storcellig typ (LCNEC) vilken kännetecknas av tumörceller med måttligt med cytoplasma, rundade kärnor och ofta prominent nukleol. Alla NEC är höggradiga neoplasier.

Blandade neuroendokrina-icke-neuroendokrina neoplasier (MiNEN) är epiteliala neoplasier där en neuroendokrin komponent är kombinerad med en icke-neuroendokrin komponent. Båda komponenterna skall representera mer än 30% av tumören och vara identifierbara morfologiskt och immunhistokemiskt. Den icke-neuroendokrina komponenten är oftast av körteltyp eller skivepiteltyp.

Tabell 2. Klassificerings- och graderingskriterier för neuroendokrina neoplasier (NENs) i magtarmkanal samt lever, gallvägar och pankreas (WHO 2019) (3)

| Terminologi | Differentiering | Grad | Mitotiskt index | Ki67 index |
|-------------------------|---------------------|-------------|-----------------|------------|
| NET G1 | Högt differentierad | Låg | <2 | <3% |
| NET G2 | Högt differentierad | Intermediär | 2-20 | 3-20% |
| NET G3 | Högt differentierad | Hög | >20 | >20% |
| NEC, småcellig (SCNEC) | Lågt differentierad | Hög | >20 | >20% |
| NEC, storcellig (LCNEC) | Lågt differentierad | Hög | >20 | >20% |
| MiNEN | Högt eller lågt | Varierar | Varierar | Varierar |

Gradering av neuroendokrina neoplasier sker med hjälp av mitosindex och Ki67 index:

G1: < 2 mitoser/10 HPF och/eller < 3% Ki67 index

G2: 2-20 mitoser/10 HPF och/eller 3-20 % Ki67 index

G3: > 20 mitoser/10 HPF och/eller > 20% Ki67 index

Mitosindex beräknas på hematoxylin-eosin färgade snitt. 50 HPF räknas från tumörområde med högst mitosfrekvens. Antalet mitoser per 10 HPF (2 mm²) anges. Ki-67 index beräknas på immunfärgade snitt (MIB1 antikropp). 500-2000 tumörcellskärnor från tumörområde med högst inmärkning ("hot spots") analyseras. Ki67 index anges som den procentuella andelen positiva tumörcellskärnor. I de fall mitosindex och Ki67 index skiljer sig åt, klassas tumören enligt den högre graden. För neuroendokrina tumörer i pankreas är det klarlagt att såväl mitosindex som Ki67 index har av varandra oberoende prognostisk betydelse (4).

Gradering av neuroendokrina neoplasier har stor betydelse för val av behandling. Såväl den immunhistokemiska färgningen för Ki67 som beräkning av Ki67 index behöver därför standardiseras (5-7). Färgning för Ki67 skall inkludera positiv kontroll med känt mönster. Immunhistokemisk färgning av urkalkat material är tekniskt vanskelig särskilt vad gäller Ki67 vilken därför bör tolkas med stor försiktighet (8). Beräkning av Ki67 genom "visuell inspektion" genom mikroskopets okular är behäftad med stor osäkerhet. Beräkning utförd på digitaliserade bilder, manuellt eller med hjälp av bildanalysprogram är därför att föredra. Särskilt viktigt är att skilja ut höggradiga neuroendokrina neoplasier (G3) från låggradiga neoplasier (G1-2), eftersom behandlingen av dessa skiljer sig åt. Grad 3 neoplasier (G3) är en heterogen grupp och innefattar tumörer med olika genetisk bakgrund, prognos och svar på behandling. I de senaste WHO klassifikationerna skiljer man därför på högt differentierade grad 3 tumörer (NET G3) och lågt differentierade grad 3 carcinom (NEC G3). Grad 3 neoplasier med ett Ki67 värde >55% har sämre överlevnad, men svarar å andra sidan bättre på platinium-baserad terapi (9).

Observera att för adekvat klassificering och gradering av neuroendokrina tumörer krävs att tumörsnitt utöver rutinfärgning även färgas för chromogranin A, synaptophysin och Ki-67. Cytologiskt material är därför mindre lämpat för diagnostik av neuroendokrina neoplasier.

Som en följd av den nya WHO-klassifikationen och uppfattningen att alla neuroendokrina tumörer är potentiellt maligna skall dessa tumörer även stadielindelas enligt TNM. Den senaste versionen av TNM (8:e upplagan, 2017) (10) ger riktlinjer för klassificering av neuroendokrina tumörer i magtarmkanal och pankreas. Riktlinjerna är anpassade efter tumörlokalisering och tumörgrad. Lågt differentierade neuroendokrina neoplasier (NEC, MiNEN) klassas som regel enligt principerna för adenocarcinom på samma lokal. Vid neuroendokrina tumörer i tunntarm är "mesenteric tumor deposits" vanliga och indikerar sämre prognos (11). Senaste versionen av TNM tar dock inte hänsyn till "mesenteric tumor deposits".

WHOs klassifikation av neuroendokrina tumörer följer samma kriterier oavsett tumörens lokalisering i magtarmkanal. Etiologi och hormonproduktion (tumörcelltyp) varierar dock med primärtumörens lokal. För neuroendokrina neoplasier i magsäck anger därför WHO några förtydliganden. ECL-cellen är den vanligaste endokrina celltypen i fundus-corporis slemhinna. Cellen producerar histamin som deltar i regleringen av parietalcellernas syrasekretion. Histamin är svårt att påvisa i formalinfixerad vävnad, varför istället immunhistokemisk färgning för vesikulär monoamintransportör typ 2 (VMAT2) används för att identifiera ECL celler. Vid autoimmun atrofisk gastrit kan proliferation av ECL-celler påvisas i fundus-corporis slemhinnan. En ökning av antalet ECL-celler i form av linjära eller nodulära bildningar inom körtlarna betecknas som linjär respektive nodulär ECL-cell hyperplasi. Gränsen mellan ECL-cell hyperplasi och ECL-cell dysplasi är svår att dra. Större noduli av ECL-celler (0,15-0,5 mm) med lätt atypi klassas som ECL-cell dysplasi. Gränsen mellan ECL-cell dysplasi och mikro-NET är liksom svår att definiera. Enligt TNM skall

ECL-cell proliferationer $\geq 0,5$ mm klassas som neuroendokrina tumörer (NET). ECL-cell NET är den mest frekventa endokrina tumörtyper i ventrikeln. ECL-cell NET kan baserat på kliniska data och histologi indelas i tre typer enligt WHO:

Typ I ECL-cell NET associerad med autoimmun atrofisk gastrit i fundus-corporum slemhinna med hypergastrinemi. ECL-cell hyperplasi och dysplasi kan som regel påvisas. Tumörerna är som regel ≤ 1 cm och multipla tumörer är vanliga. Tumörerna ger sällan upphov till spridning utanför ventrikeln. Flertalet tumörer är av grad G1.

Typ II ECL-cell NET associerade med Zollinger-Ellison syndrom (hypergastrinemi till följd av gastrinproducerande endokrin tumör) och MEN1. ECL-cell hyperplasi och dysplasi kan som regel påvisas, men fundus-corporum slemhinnan uppvisar ingen atrofi. Tumörerna är som regel $\leq 1,5$ cm och multipla tumörer är vanliga. Tumörerna ger sällan upphov till spridning utanför ventrikeln. Flertalet tumörer är av grad G1.

Typ III ECL-cell NET uppträder som sporadiska tumörer utan någon association till autoimmun gastrit eller MEN1. Tumörerna är som regel solitära, > 2 cm stora, med spridning till regionala lymfkörtlar och/eller lever. Tumörerna ger ofta upphov till lokala symptom och/eller atypiskt carcinoidsyndrom. Flertalet tumörer är av grad G2.

VI. Utformning av diagnostext.

Rekommenderade klassifikationssystem

Neuroendokrina tumörer klassificeras och graderas enligt WHO 2017 och WHO 2019

Neuroendokrina tumörer stadieindelas enligt TNM 8:e upplagan 2017

VII. Administrativt

SNOMED-koder

T59000 pancreas
 T63000 ventrikel
 T64000 duodenum
 T65000 tunntarm
 T66000 appendix
 T67000 colon
 T68000 rectum

Obligatoriska koder:

M82403 NET G1
 M82493 NET G2
 M82493 NET G3
 M82463 neuroendokrint carcinom (NEC)
 M80133 storcellig NEC
 M80413 småcelligt NEC
 M81543 MiNEN
 M81503 NET G1, G2 (icke-funktionell pankreas NET)
 M86830 gangliocytisk paragangliom

Tilläggs-koder:

M82413 serotonin producerande NET
 M81533 gastrin producerande NET (gastrinom)
 M81563 somatostatin producerande NET (somatostatinom)
 M81513 insulin producerande NET (insulinom)
 M81523 glukagon producerande NET (glukagonom)
 M81553 VIP producerande NET (VIPom)

VIII: Övrigt**Referenser**

1. Klimstra, D. S., I.R. Modlin, D. Coppola, R.V. Lloyd, S. Suster, *The pathologic classification of neuroendocrine tumors: a review of nomenclature, grading, and staging systems*. Pancreas 2010;39:707-712
2. *WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs*. 4th ed. 2017
3. *WHO Classification of Tumours. Digestive System Tumours*. 5th ed. 2019
4. McCall, C. M., C. Shi, T.C. Cornish, D.S. Klimstra, L.H. Tang, O. Basturk, L.J. Mun, T.A. Ellison, C.L. Wolfgang, M.A. Choti, R.D. Schulick, B.H. Edil, R.H. Hruban, *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;37:1671-1677
5. Tang, L. H. M. Gonen, C. Hedvat, I. M. Modlin, and D. S. Klimstra, *Objective Quantification of the Ki67 Proliferative Index in Neuroendocrine Tumors of the Gastroenteropancreatic System. A Comparison of Digital Image Analysis With Manual Methods*. Am J Surg Pathol 2012;36:1761–1770
6. Adsay, V., *Ki67 Labeling Index in Neuroendocrine Tumors of the Gastrointestinal and Pancreatobiliary Tract. To Count or Not to Count Is Not the Question, But Rather How to Count*. Am J Surg Pathol 2012, 36:1743-1746
7. Reid MD, Bageci P, Ohike N, Saka B, Erbarut Seven I, Dursun N, Balci S, Gucer H, Jang KT, Tajiri T, Basturk O, Kong SY, Goodman M, Akkas G, Adsay V. *Calculation of the Ki67 index in pancreatic neuroendocrine tumors: a comparative analysis of four counting methodologies*. Modern Pathology 2015;28:686-694
8. Torlakovic, E. E., K. Naresh, M. Kremer, J. van der Walt, E. Hyjek, A. Porwit, *Call for a European programme in external quality assurance for bone marrow immunohistochemistry; report of a European Bone Marrow Working Group pilot study*. J Clin Pathol 2009;62:547–551
9. Sorbye, H., S. Welin, S.W. Langer, L. W. Vestermark, N. Holt, P. Osterlund, S. Dueland, E. Hofslis, M. G. Guren, K. Ohrling, E. Birkemeyer, E. Thiis-Evensen, M. Biagini, H. Gronbaek, L. M. Soveri, I. H. Olsen, B. Federspiel, J. Assmus, E. T. Janson & U. Knigge, U. *Predictive and prognostic factors for treatment and survival in 305 patients with advanced gastrointestinal neuroendocrine carcinoma (WHO G3): The NORDIC NEC study*. Annals of Oncology 24: 152–160, 2013
10. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. 2017
11. Gonzalez, R. S., E. H. Liu, J. R. Alvarez, G. D. Ayers, M. K. Washington and C. Shi, *Should mesenteric tumor deposits be included in staging of well-differentiated small intestine neuroendocrine tumors?* Modern Pathology 2014;27:1288-1295