

## **Kapitel 7. Endokrina tumörer 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 lokalisation, utseende och storlek på tumör(er) anges.

### **III. Utskärningsanvisningar**

Biopsier mäts och bäddas i sin helhet. Operationspreparat (resektat) skärs enligt KVAST dokument för icke-endokrin tumör på samma lokal. För operationspreparat från ventrikel, duodenum, jejunum, ileum och kolorektum anges: resektatets längd, primärtumörens(ernas) lokalisation, 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, 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 (mm) samt minsta avstånd till närmsta resektionsyta (mm).

### **IV. Analyser**

Biopsier och utskurna vävnadsblock paraffinbäddas och färgas med hematoxylin-eosin (eller van Gieson enligt lokal tradition). Biopsier och vävnadsblock från ventrikelslemhinna färgas även med AB-PAS och Giemsa. Tumörsnitt skall färgas immunhistokemiskt för chromogranin A, synaptophysin och Ki-67 (MIB1). Beroende på klinisk frågeställning, tumörlokalisering och mikroskopiska fynd, kan ytterligare immunhistokemiska analyser behöva utföras. Vid känd primärlokal kan färgning för specifika hormon vara aktuellt (Tabell I). Vid metastatisk tumörsjukdom kan färgning för specifika hormon samt CDX2, PDX och TTF1 ge vägledning om primärlokal. Färgning för cytokeratin-subtyper har inget värde vid bestämning av neuroendokrina tumörers ursprung. Om en tumörs neuroendokrina differentiering är oklar (exempelvis negativ färgning för chromogranin A och synptofysin)

kan färgning för ytterligare neuroendokrina markörer vara aktuell, exempelvis CD56, SV2 och PGP9.5. Färgning för NSE har igen plats i diagnostiken av endokrina tumörer eftersom denna markör har en låg specificitet. I de fall laboratoriet saknar rekommenderade antikroppar bör fallet skickas för konsultation.

**Tabell I. Rekommenderade antikroppar vid diagnostik av endokrina tumörer i magtarmkanal och pancreas efter primärtumörens lokalisation. Chromogranin A, synaptophysin och Ki67 är obligatoriska antikroppar vid frågeställningen neuroendokrin tumörer.**

Tumörlokal (endokrin celltyp)	Antikroppar
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
Pancreas (G, A, B, D, PP)	chromogranin A, synaptophysin, Ki67 gastrin insulin glukagon somatostatin pancreaspolypeptid (PP)

**V. Information i remissens svarsdel**

Makrobeskrivningen följer utskärningsanvisningarna ovan.

Klassifikationssystemen för neuroendokrina tumörer skiljer sig åt beroende på det organsystem som tumören har sitt ursprung i. Ett enhetligt system för samtliga neuroendokrina tumörer saknas således (Klimstra 2010). Neuroendokrina neoplasier i magtarmkanal och pankreas skall klassificeras enligt WHO 2010 (Bosman 2010). Klassifikationen innebär ett nytt synsätt och en ny nomenklatur för denna tumörgrupp jämfört med tidigare system (WHO 2000). Utgångspunkten i den nya klassifikationen är att alla neuroendokrina tumörer har malign potential. Neuroendokrina tumörer indelas i följande grupper:

Neuroendokrin tumör grad 1, NET G1 (carcinoid)

Neuroendokrin tumör grad 2, NET G2  
 Neuroendokrint carcinom, NEC (= G3)  
 Blandat adenoneuroendokrint carcinom, MANEC

Neuroendokrin tumör (NET) är en högt differentierad neuroendokrin neoplasi, bestående av tumörceller som liknar magtarmkanalens respektive pankreas normala endokrina celler. Tumören uttrycker chromogranin A och synaptophysin och uppvisar lätt till måttlig nukleär atypi. Tumörgraden är låg (G1-G2).

Neuroendokrint carcinom (NEC) är en lågt differentierad neuroendokrin neoplasi som är höggradigt malign. Tumören uttrycker chromogranin A och synaptophysin och uppvisar uttalad nukleär atypi. Tumörgraden är hög (G3). Tumörerna kan vara av småcellig eller storcellig typ.

Blandat adenoneuroendokrint carcinom (MANEC) är en blandtumör som innehåller minst 30% körtelbildande (exokrin) och minst 30% endokrina tumörceller.

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

G1: < 2 mitoser/10 HPF och/eller  $\leq$  2% 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 mm<sup>2</sup>) anges. Ki-67 index beräknas på immunfärgade snitt (MIB1 antikropp). Minst 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 (McCall 2013).

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 (Tang 2012, Adsay 2012). 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 (Torlakovic 2009). 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 neuroendokrina carcinom (NEC) (G3) från låggradiga tumörer, eftersom behandlingen av G3 tumörer skiljer sig från G1-2 tumörer. Gruppen NEC (G3) är heterogen och innefattar tumörer med olika prognos och olika svar på kemoterapi. NEC med ett Ki67 värde >55% har sämre överlevnad, men svarar å andra sidan bättre på platinum-baserad terapi (Sorbye 2013). Vid misstanke om G3 tumör bör fallet skickas till subspecialiserad patolog.

Observera att för adekvat diagnostik av neuroendokrina tumörer krävs att tumörsnitt färgas för chromogranin A, synaptophysin och Ki-67. Kriterier för gradering av neuroendokrina tumörer på cytologiskt material saknas.

Som en följd av den nya WHO-klassifikationen (WHO 2010) och uppfattningen att alla neuroendokrina tumörer är potentiellt maligna skall dessa tumörer även stadiindelade enligt TNM (Sobin 2009). Den senaste versionen av TNM (7:e upplagan, 2009) ger riktlinjer för klassificering av neuroendokrina tumörer i magtarmkanal och pankreas. Riktlinjerna är anpassade efter tumörlokalisering och skiljer sig delvis från de som gäller för adenocarcinom på samma lokal. Vid neuroendokrina tumörer i tunntarm är ”mesenteric tumor deposits” vanliga och indikerar sämre prognos (Gonzalez 2014). 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 eller pankreas. 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-corpora 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-corpora 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 likaledes 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 tumörtypen 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-corpora slemhinna med hypergastrinemi. ECL-cell hyperplasi och dysplasi kan som regel påvisas. Tumörerna är som regel  $\leq 1$  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-corpora 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 2010

Neuroendokrina tumörer stadiindelade enligt TNM 7:e upplagan 2009

## VII. Administrativt

### SNOMED-koder

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

### *Obligatoriska koder:*

M82403 NET G1 (carcinoid)  
 M82493 NET G2  
 M82463 neuroendokrint carcinom (NEC)  
 M80133 storcellig NEC  
 M80413 småcelligt NEC  
 M82443 blandat adenoneuroendokrint carcinom (MANEC)  
 M81503 NET G1, G2 (icke-funktionell pankreas NET, ö-cellstumör)  
 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

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

Bosman, F.T., F. Carneiro, R.H. Hruban, and N.D. Theise. *WHO Classification of Tumours of the Digestive System.* 4<sup>th</sup> Edition. 2010. IARC, Lyon

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

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

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

Sobin, L.H., M.K. Gospodarowicz, and C. Wittekind, eds. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7<sup>th</sup> Edition. 2009, Wiley-Blackwell

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

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

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.