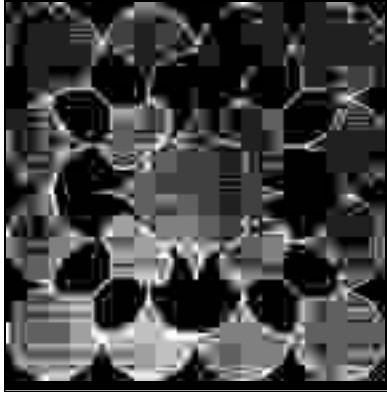
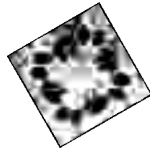


Caleidoscopio

Italiano



Luca Giovanella



Tumori Neuroendocrini: diagnosi e fisiopatologia clinica



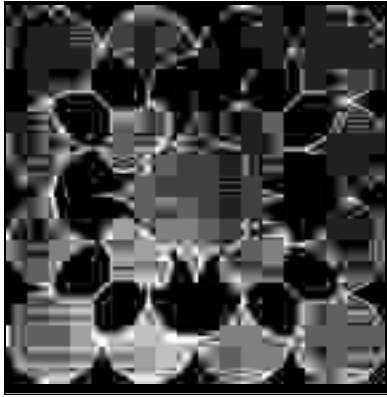
138

**Direttore Responsabile
Sergio Rassu**

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1999

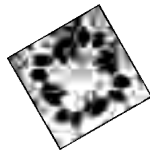
Caleidoscopio

Italiano



Luca Giovanella

Laboratorio di Endocrinologia
U. O. Medicina Nucleare
Ospedale di Circolo e Fondazione
Macchi - Varese



Tumori Neuroendocrini: diagnosi e fisiopatologia clinica



138

Direttore Responsabile
Sergio Rassu



Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1999

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI GENERALI. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'*Index Medicus* e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2) Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'*International system of units (SI)*.

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista *Caleidoscopio* rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

**Dott. Sergio Rassa
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari**

Caleidoscopio

Italiano

Editoriale

La neuroendocrinologia, nata come un campo dell'endocrinologia, nel corso degli ultimi venti anni è stata oggetto di interesse anche da parte di altre discipline quali l'Anatomia Patologica per quanto riguarda l'espressione dei neuropeptidi da parte dei tumori, la Cardiologia per quel che riguarda la regolazione dei neuropeptidi della funzione cardiaca, la Psichiatria per gli effetti dei neuropeptidi nello stress o la Scienza della nutrizione per quel che riguarda l'azione della leptina nell'obesità. Proprio perché la neuroendocrinologia gioca un ruolo rilevante in tutti gli organi, questo ha finito quindi per appannare la stessa immagine del neuroendocrinologo che invece dovrebbe essere l'elemento unificante di questa branca che costituisce per l'endocrinologia il campo principale di ricerca.

Questa monografia, scritta da un endocrinologo, prendendo spunto dall'analisi dei tumori neuroendocrini, in realtà costituisce un corpo unico in cui vengono analizzati molti dei temi di questo campo dell'endocrinologia dandone una visione unitaria. Vengono infatti analizzati gli aspetti generali, anatomici e classificativi e successivamente vengono illustrati in maniera sintetica ma completa gli aspetti clinici e diagnostici per concludere con un capitolo dedicato allo studio delle neoplasie neuroendocrine, dandone, per i motivi anzidetti, un quadro di insieme. L'Autore della monografia è ormai collaudato da tantissimi anni ed è stato da sempre un perfetto interprete dello spirito didattico della collana Caleidoscopio dando sempre dimostrazione di poter coniugare la profondità dei contenuti alla chiarezza espositiva.

Il dottor Luca Giovanella è medico-chirurgo, specialista in Medicina Nucleare e in endocrinologia sperimentale.

E' attualmente Responsabile del Laboratorio di Endocrinologia presso il Centro di Medicina Nucleare dell'Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi di Varese.

Sergio Rassu

Sono estremamente grato a tutti coloro che hanno contribuito e collaborato a questo lavoro e, in particolare, desidero ringraziare:

I colleghi: Dr.ssa Silvana Garancini (*Responsabile*), Dr.ssa Lea Ballada, Dr. Luca Ceriani, Dr. Diego De Palma, Dr.ssa Anna Fachinetti, Dr. Marcello Intotero (*Interno*) UO Medicina Nucleare, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi - Varese.

La Dr.ssa Paola Erba, Medicina Nucleare Università degli Studi - Genova.

Capo-Tecnici, Tecnici di Laboratorio e di Radiologia Medica, UO Medicina Nucleare, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi - Varese.

Luca Giovanella

Il Sistema Neuroendocrino

L'apparato endocrino può essere diviso in due componenti principali: il "sistema neuroendocrino" (*NeuroEndocrine System* NES) ed il "sistema non neuroendocrino". Quest'ultimo è principalmente rappresentato dalle ghiandole a secrezione steroidea (corticale del surrene e gonadi) e dalla tiroide, fatta eccezione per la componente a cellule C parafollicolari. Il NES è invece costituito da una varietà di cellule, distribuite in numerosi organi a funzione non endocrina, che sono caratterizzate dalla capacità di sintetizzare amine e peptidi, spesso utilizzando e metabolizzando precursori della L-dopa (Pearse, 1986) (1).

Negli anni passati si è creata molta confusione riguardo l'istogenesi delle cellule appartenenti al NES: sebbene Pearse abbia per primo ipotizzato che esse derivino dalle creste neurali (Pearse e Takor-Takor, 1979) (2), altri autori hanno elegantemente dimostrato che solo le cellule C della tiroide e le cellule della midollare del surrene e dei paragangli sono di derivazione neuroectodermica, mentre le altre cellule derivano dall'entoderma (Fontaine e Le Dourin, 1977; Baylin, 1990) (3, 4).

Nonostante questa differente derivazione embriologica tutte le cellule del NES esprimono uno o più markers neuroendocrini quali la sinaptofisina, l'enolasi neurone specifica e le cromogranine, la cui ricerca risulta particolarmente utile per la loro identificazione. Le funzioni delle cellule del NES sono legate alla sintesi ed alla secrezione di numerosi peptidi, amine e fattori di crescita, che regolano con meccanismi endocrini, paracrini ed autocrini, molteplici e diverse funzioni biologiche.

Le evidenze connesse all'anatomia del NES hanno portato alla formulazione di un nuovo concetto di sistema neuroendocrino suddivisibile in:

- **Sistema Neuroendocrino Diffuso (DNES)**
comprensivo di cellule nervose ed endocrine "disperse", rilevabili in vari organi e tessuti.

Nel contesto generale del DNES riveste particolare importanza il cosiddetto *sistema neuroendocrino diffuso gastro-entero-pancreatico* (DNES-GEP) che può essere considerato il più esteso sistema endocrino dell'organismo e costituisce la componente quantitativamente prevalente del DNES. Tale sistema è composto da popolazioni e subpopolazioni cellulari "disseminate" a livello della mucosa del tratto gastro-enterico, del pancreas e dell'albero biliare.

Oltre che a livello del sistema GEP, cellule neuroendocrine "diffuse" o "disperse" sono rilevabili anche a livello dell'area retro-peritoneale, delle fibre e dei plessi nervosi del tratto digerente, del tratto uro-genitale e del sistema respiratorio.

- **Sistema Neuroendocrino Confinato** (*Confined NeuroEndocrine System CNES*)
comprensivo dei tessuti ghiandolari neuroendocrini collocati in strutture anatomicamente definibili.

Nel complesso, le conoscenze relative al NES hanno determinato l'esigenza di ridiscutere il significato stesso dei termini "ormone" e "sistema endocrino" e di sostituire i classici paradigmi anatomici e fisiologici alla base dei fenomeni endocrini, con l'ipotesi di un più vasto complesso di cellule caratterizzate dalla capacità di produrre messaggeri biologici che possono regolare la funzione di più sistemi (cardiovascolare, respiratorio, genito-urinario) ed anche di interagire con il sistema nervoso e immunitario (5).

In Tabella 1 viene riassunta la distribuzione e la topografia del CNES e del DNES: circa 50 sottotipi cellulari sono stati identificati come appartenenti a questi due sistemi e da tali cellule possono derivare altrettante neoplasie. Indicativamente, la metà di tali tipi cellulari sono rilevabili nel compartimento GEP ove l'incidenza di neoplasie neuroendocrine è nettamente maggiore rispetto agli altri distretti corporei (6).

<ul style="list-style-type: none"> • Sistema NeuroEndocrino Confinato (CNES) <p>Ipofisi Tiroide Paratiroidi Ipotalamo Surrenali (midollare) Gangli Paragangli Glomo Carotideo Epifisi</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sistema NeuroEndocrino Diffuso (DNES) <p>Sistema neuroendocrino gastro-entero-pancreatico (GEP)</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Tratto gastroenterico</i> • <i>Pancreas endocrino</i> <p>Apparato respiratorio Rene ed apparato urogenitale Cute Miocardio Tessuto linfatico</p>

Tabella 1. Distribuzione e topografia del Sistema Neuroendocrino Confinato (CNES) e Diffuso (DNES).

La cellula neuroendocrina

Il termine “cellula neuroendocrina” identifica una struttura cellulare che, indipendentemente dalla localizzazione tissutale e dalla derivazione embriologica, possiede caratteristiche peculiari in termini di pattern morfologico, produzione di sostanze biologiche, ed espressione di biomarcatori (7).

Le cellule neuroendocrine possiedono generalmente un pattern istologico, citologico ed ultrastrutturale tipico. All’esame istologico standard con ematossilina ed eosina i nuclei risultano uniformi ed il citoplasma appare chiaro e granulare ed ulteriori colorazioni, come la tecnica di Grimelius o di Masson, possono definirne meglio la natura neuroendocrina.

Ultrastruttura della cellula neuroendocrina

Lo studio ultrastrutturale in microscopia elettronica dimostra la presenza di granuli secretori con un voluminoso “core” denso (diametro >80 nm): tali organelli rappresentano strutture di stoccaggio e secrezione dei peptidi e degli ormoni prodotti dalle cellule stesse: in Figura 1 è rappresentata una scansione in microscopia elettronica di tessuto neuroendocrino con evidente rappresentazione dei granuli secretori.

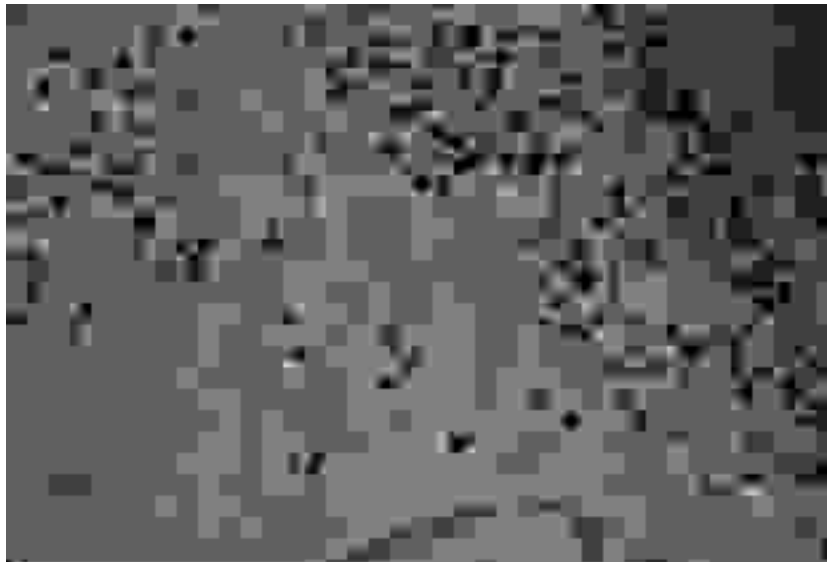


Figura 1. Microscopia elettronica. Dimostrazione dei granuli secretori a “core” elettrondenso.

Inoltre possono essere presenti vescicole secretorie di dimensioni minori (40-80 nm) con caratteristiche analoghe alle vescicole sinaptiche neuronali: la funzione di tali strutture rimane ancora non definita ma recenti evidenze sperimentali indicherebbero il loro coinvolgimento nell'accumulo di neurotrasmettitori aminoacidici come l'acido gamma-aminobutirrico (GABA).

Nella Tabella 2 sono analizzate le caratteristiche ultrastrutturali in microscopia elettronica dei granuli secretori delle cellule del sistema neuroendocrino diffuso GEP (8).

Tipo cellulare	Caratteristiche	Prodotto di secrezione	Dimensioni (nm)
Cellule G, IG	Larghi e vescicolari o piccoli e densi	Gastrina	150-400
Cellule CCK	Piccoli, scuri, irregolari con alone chiaro	CCK	150-250
Cellule S	Polimorfi con alone	Secretina	200-350
Cellule A ₂	Alone chiaro, core elettrondenso	Glucagone Enteroglucagone	200-350
Cellule GIP	Piccoli, rotondeggianti, elettrondensi	GIP	200-300
Cellule F, D ₁	Larghi e vescicolari o piccoli e rotondeggianti	Polipeptide Pancreatico	40-400
Cellule EC	Polimorfi, densi con core osmiofilo	Serotonina	150-200
Cellule EC ₁	Allungati	Serotonina, Sostanza P	150-300
Cellule EC ₂	Rotondeggianti, larghi ed irregolari	Serotonina, Motilina	150-220
Cellule P, D ₁	Piccoli, rotondeggianti con alone chiaro	Bombesina	200-400
Cellule B	Elettrondensi, con inclusi	Insulina	200-400
Cellule D, A ₁	Omogenei, circolari, non elettrondensi	Somatostatina	200-400
Cellule EC _L	Vescicolari, con alone granulare	Istamina	150-300
Cellule N	Larghi, elettrondensi	Neurotensina	250-350

Tabella 2. Caratteristiche elettron-microscopiche dei granuli secretori delle cellule del sistema neuroendocrino gastro-entero-pancreatico.

Marcatori neuroendocrini cellulari

Recentemente sono stati impiegati nell'identificazione di specifici componenti e prodotti cellulari neuroendocrini, anticorpi di tipo poli- o monoclonale. I marcatori cellulari così identificati possono essere localizzati a livello citoplasmatico oppure sono associati ai granuli ed alle vescicole secretorie. In Tabella 3 sono illustrati i più comuni marcatori neuroendocrini suddivisi in marcatori citoplasmatici (o metabolici) e marcatori associati ai granuli secretori (o strutturali) (9)

Marcatori citoplasmatici

Tra i marcatori neuroendocrini a localizzazione citoplasmatica maggiormente utilizzati nella identificazione dei tumori neuroendocrini figurano l'Enolasi Neurone Specifica (NSE), la Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) e la Proteina 7B2 e la Sinaptofisina.

Enolasi Neurone Specifica (NSE)

Dimero gamma-gamma dell'enzima glicolitico enolasi, inizialmente isolato nel cervello bovino, è ampiamente utilizzato come marcatore di diffe-

Marcatori citoplasmatici

Enolasi Neurone-Specifica (NSE *dimero gamma-gamma*)
Sinaptofisina (P38)
Sinaptobrevina (VAMP-1)
Sinapsina (1A, 1B, 2A, 2B)
SV2
Proteina P65
Proteina S-100
Protein Gene Product (PGP 9.5)
Filamenti Intermedi (citocheratine, vimentina, neurofilamenti)
Proteina 7B2

Marcatori granulari***Famiglia delle Cromogranine***

Cromogranina-A (protein secretory I)
Cromogranina-B (secretogranina I)
Cromogranina C (secretogranina II)
Pancreastatina
Vasostatina

Citocromo b561
Leu-7 (HNK-1)

Tabella 3. Marcatori neuroendocrini.

renziamento neuroendocrino. Dopo la dimostrazione della sua espressione da parte delle cellule neuroendocrine e dei tumori da esse derivati (Tapia et al., 1981) (10).

L'NSE è una proteina citosolica e la sua presenza non è correlata con la densità granulare: per questo motivo essa è particolarmente utile per la diagnosi delle neoplasie scarsamente granulate, come per esempio i carcinomi neuroendocrini scarsamente differenziati. La sua espressione, tuttavia, non è ristretta ai soli tessuti neuroendocrini e l'NSE risulta identificabile anche in neoplasie non neuroendocrine come i tumori solidi e cistici del pancreas, il carcinoma renale ed i linfomi maligni.

PGP 9.5 (Protein Gene Product 9.5)

È una proteina citosolica originariamente estratta da tessuto cerebrale, di cui è nota l'associazione con il tessuto neuroendocrino, ma non è conosciuta la funzione fisiologica (11) (Doran et al., 1983). Essa è particolarmente utile per dimostrare la natura neuroendocrina di neoplasie scarsamente differenziate come i carcinomi indifferenziati a piccole cellule.

Sinaptofisina

La sinaptofisina (o proteina P38) è una glicoproteina inizialmente isolata nelle vescicole presinaptiche dei neuroni bovini (Jahn et al. 1985) (12). Successivamente è stata dimostrata in numerose cellule del DNES tra cui le cellule delle isole pancreatiche e della midollare del surrene (Gould et al. 1986) (13). L'espressione di sinaptofisina è presente anche nelle cellule delle neoplasie neuroendocrine povere di granuli secretori, per cui è di particolare aiuto, insieme all'espressione di NSE e proteina PGP 9.5, nella diagnosi delle neoplasie scarsamente differenziate (Gould et al. 1987). Altri marcatori con simile indicazione sono la sinapsina e la sinaptobrevina (VAMP-1) (14).

Proteina 7B2

Proteina di 179 aminoacidi, estratta da ipofisi umana. Appare correlata alla differenziazione neuroendocrina ed indipendente dalla espressione di NSE e PGP 9.5 (15).

Marcatori associati ai granuli secretori

Sono rappresentati da molecole appartenenti al sistema delle granine, una famiglia di glicoproteine acide idrosolubili localizzate nella matrice dei granuli secretori, studiate in maniera estensiva e denominate cromogranine.

Le cromogranine sono proteine anioniche inizialmente isolate nei granuli secretori, contenenti catecolamine, delle cellule della midollare del surrene (O'Connor e Frigen 1984; Schmieder et al. 1967) (16, 17). Esistono almeno tre forme molecolari tra loro correlate e denominate cromogranina A (CgA),

cromogranina B (CgB) o secretogranina I e cromogranina C (CgC) o secretogranina II (Winkler e Fischer-Colbrie 1992) (18).

Sono presenti in quasi tutte le cellule del DNES e nei relativi tumori (Wiedenmann et al. 1989; Rindi et al., 1986) (19, 20), per cui divengono marcatori particolarmente utili per la diagnosi, soprattutto dei tumori con significativa rappresentazione della componente granulata.

Sebbene le funzioni biologiche delle varie cromogranine non siano ancora del tutto note, esse sembrano svolgere numerose attività intra ed extracellulari. La CgA è la molecola più studiata e pare coinvolta nei meccanismi di accumulo delle catecolamine nei granuli secretori, di inibizione del clivaggio proteolitico di pro-ormoni da parte della tripsina e nei meccanismi di regolazione che portano alla formazione dei granuli secretori (21).

La CgA è anche il precursore della pancreastatina, inibitore della secrezione di insulina, della α -granina e della cromostatina (Iacangelo et al. 1988; Hutton et al.; 1987; Galindo et al. 1991) (22, 23, 24).

Cromogranina A: genetica, biochimica e fisiopatologia

I geni codificanti per le cromogranine determinano la struttura delle singole catene aminoacidiche con un peptide segnale N-terminale che dirige la proteina verso l'apparato di Golgi per il successivo "processing" post-traduzionale. Nel genoma umano la cromogranina A viene codificata da 8 esoni separati, appartenenti al cromosoma 14.

L'espressione della cromogranina A, ubiquitaria nei tessuti neuroendocrini, è peraltro caratterizzata dalla co-espressione di ormoni polipeptidici o neurotrasmettitori di tipo cellulo-specifico: pertanto il gene della cromogranina A dev'essere in grado di rispondere ad una ampia varietà di segnali modulatori che portano all'espressione della molecola in molteplici famiglie cellulari. E' stata dimostrata, ad esempio, la regolazione negativa esercitata dagli estrogeni su mRNA e proteina matura nell'ipofisi e la up-regolazione da parte dei glucocorticoidi nell'ipofisi e nel surrene. La biosintesi di cromogranina A appare incrementata da parte della 1, 25 OH vit.D3 (che, invece, inibisce il PTH) nella paratiroidi (25).

Inoltre è conosciuta la presenza di un sito di risposta all'AMP ciclico (CRE) sul gene della cromogranina, anche se la risposta secretoria alla stimolazione della via della protein-chinasi A appare, su linee cellulari neuroendocrine normali e patologiche, estremamente modesta (26).

Nel complesso l'analisi dei meccanismi di regolazione della biosintesi della cromogranina A nei tessuti del sistema neuroendocrino diffuso suggerisce che la molecola sia normalmente prodotta "in eccesso" e che eventuali picchi secretivi siano caratterizzati da una diminuita attività dei meccanismi di degradazione più che da un reale incremento della trascrizione genica (27).

La molecola matura della cromogranina A (439 aa. PM 48 KDa) è caratterizzata da una elevata omologia interspecie, specialmente a livello delle estremità N- e C- terminali.

Il ruolo fisiologico delle granine non è ancora completamente definito: in relazione alla loro abbondanza ed alla loro ubiquitaria distribuzione nei tessuti neuroendocrini sono verosimilmente coinvolte in molteplici attività biologiche intra ed extracellulari.

Funzioni intra-cellulari della Cg-A

E' stata dimostrata la proprietà di aggregazione della Cg-A (ed anche delle altre cromogranine) in presenza di elevate concentrazioni di calcio ed, inoltre, sono state studiate le interazioni tra la Cg-A ed altre componenti granulari. Tali evidenze paiono supportare una serie di funzioni intra-cellulari della Cg-A ovvero:

- a) formazione delle stesse vescicole di secrezione, a partire da strutture vescicolari immature, attraverso il "trans-Golgi network" (granulogenesi)
- b) trasporto e stoccaggio di altre proteine nei granuli secretori
- c) formazione di complessi di "stoccaggio" con nucleotidi, cationi e neurotrasmettitori all'interno dei granuli, con la funzione di rendere la matrice di secrezione granulare inerte dal punto di vista osmotico

Pertanto, le funzioni intracellulari della Cg-A possono essere riassunte e schematizzate nelle seguenti due articolazioni:

- 1) **aggregazione delle strutture secretorie, basata sulle proprietà calcio-leganti (28)**
- 2) **secrezione ormonale e peptidica, basata sulla segregazione in ambito granulare e sulla capacità di legare altri ormoni (29)**

Funzioni extra-cellulari della Cg-A

La Cg-A possiede una importante funzione di tipo pro-ormonale dimostrata e basata sulla identificazione di potenziali siti di clivaggio sulla struttura molecolare della Cg-A (come delle altre granine): ciò evidenzia il loro ruolo come precursore inattivo di peptidi biologicamente differenziati e funzionanti.

E' stato dimostrato che la Cg-A riveste un ruolo cruciale come pro-ormone, attraverso il release di peptidi bio-attivi derivati da processi proteolitici che possono avvenire sia in sede intragranulare che in sede extra-cellulare: i fenomeni proteolitici avvengono principalmente a livello di 10 siti dibasici, distribuiti lungo la sequenza aminoacidica. Sono possibili azioni di clivaggio anche a carico di altre regioni della molecola ed è stato dimostrato che il processo proteolitico è ricorrente, soprattutto a livello delle estremità N- e C-

terminali della molecola. La degradazione della Cg-A avviene in maniera tessuto-specifica con possibili, importanti, differenze fra i frammenti molecolari prodotti e rilevabili a livello dei vari tessuti, del circolo ematico e delle urine (30).

Inoltre è stata dimostrata una produzione quantitativamente, ma anche qualitativamente, differente fra tessuti normali e patologici: ad esempio, il profilo antigenico dei frammenti molecolari rilevabili in una popolazione affetta da feocromocitoma ed in una popolazione di controllo, differisce significativamente (31).

Nella Tabella 4 sono elencati alcuni prodotti del clivaggio della cromogranina-A e delle altre molecole della famiglia delle cromogranine e nella Figura 2 viene schematizzata la struttura molecolare della Cg-A e di alcuni peptidi Cg-A-derivati.

Del tutto recentemente è stata dimostrata (Strub et al., 1996) una attività di tipo antibatterico da parte della pro-cromacina, un peptide derivato dal clivaggio della Cg-A (32).

Prodotti di clivaggio	Sequenza molecolare
Cromogranina-A	
◦ Pancreastatina	Cg-A 249-301
◦ -granina	Cg-A 001-114
◦ Cromostatina	Cg-A 124-143
◦ Vasostatina	Cg-A 001-076

Tabella 4. Prodotti di clivaggio della Cromogranina-A.

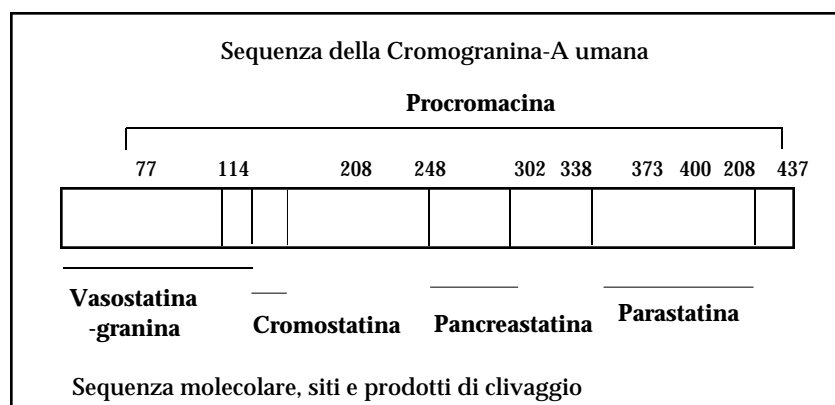


Figura 2. Schema strutturale della Cg-A e dei peptidi derivati.

Cellule del sistema neuroendocrino diffuso: biologia e distribuzione anatomico-topografica

Cellule ipofisarie

L'ipofisi è formata da cordoni cellulari in relazione variabile con i vasi del sistema portale ipotalamo-ipofisario: il numero e la varietà delle sottopopolazioni cellulari ipofisarie è riflessa dalle molteplici classificazioni e denominazioni, in accordo con i dati istologici, citochimici e gli ormoni prodotti.

Attualmente vengono impiegati quasi esclusivamente criteri ultrastrutturali (microscopia elettronica) ed immunoistochimici. Le popolazioni cellulari possono essere suddivise in: cellule cromofobe, cellule secernenti peptidi e cellule secernenti molecole glicoproteiche.

Cellule cromofobe

Rappresentano il gruppo più numeroso, costituito da oltre il 40% delle cellule ipofisarie. Il termine "cromofobo" indica semplicemente l'incapacità di assumere colorante all'esame citochimico. Il loro significato biologico non è ancora completamente noto e sono varie le ipotesi formulate circa il loro ruolo:

- cellule con attività funzionale non evidenziabile dagli attuali metodi di indagine
- cellule ancora indifferenziate (riserva cellulare e funzionale latente)
- cellule prive di granuli secretori dopo una fase di intensa attività secretiva ovvero cellule funzionalmente "esaurite"

Le attuali ipotesi biologiche vedono le cellule cromofobe come una potenziale riserva funzionale dell'ipofisi: oltre a ciò esistono evidenze sul possibile ruolo chiave delle cellule cromofobe, insieme alle cellule follicolo-stellate (di cui si parlerà più avanti) nella regolazione autocrina e paracrina del funzionamento ipofisario.

Cellule Follicolo-Stellate

Considerate come appartenenti al gruppo delle cellule cromofobe, le cellule follicolo-stellate sono state successivamente identificate come le principali responsabili della maggior parte delle interazioni paracrine intra-ipofisarie. In particolare le cellule follicolo-stellate contengono granuli immunopositivi per la proteina S-100 (marcatore neuroendocrino) ma anche per il fattore basico di crescita dei fibroblasti (*basic-FGF*) e per l'interleukina-6 (IL-6).

Cellule secernenti ormoni

Possono essere suddivise, su base citochimica, in:

cellule cromofile acidofile: rappresentano circa il 35% della popolazione cellulare ipofisaria e producono ormoni peptidici (GH, PRL).

• Le **cellule secernenti ACTH e sostanze POMC-correlate** rappresentano un altro 10% e possono essere identificate solo in microscopia elettronica, grazie alla presenza di piccoli granuli secretori (Tabella 5).

Cellula	Ormone	Sostanze associate
Cellule PRL	Prolattina	Kallikreine, VIP, Galanina Neuromedina U, Peptide- correlato alla Calcitonina
Cellule GH	Somatotropina	beta-endorfina, Meta e Leu-Enkefalina Dinorfina, Galanina, VIP, Sostanza P, Neuromedina U, Neurotensina, Motilina, Neuropeptide Y
Cellule ACTH	Corticotropina	Ach, Galanina, VIP, Sostanza P, beta- Lipotropina, beta-Endorfina, MSH

Tabella 5. Prodotti delle cellule ipofisarie secernenti ormoni peptidici.

Cellule cromofile basofile: rappresentano il 15% della popolazione cellulare ipofisaria e producono ormoni a struttura glico-proteica (TSH, FSH ed LH).

Cellule paratiroidi

Le ghiandole paratiroidi producono il paratormone (PTH): le **cellule principali** delle paratiroidi rappresentano l'unico elemento cellulare a capacità biosintetica e secretoria mentre le cellule ossifile sono coinvolte nella trasmissione di messaggi chimici e/o ormonali ma non nella attività secretiva ghiandolare (33).

Da un punto di vista morfo-funzionale ed ultrastrutturale, le cellule principali paratiroidi possono essere distinte in:

- 1) cellule "chiare", con abbondante citoplasma e piccoli nuclei densi
- 2) cellule "scure", con sviluppo del reticolo endoplasmatico rugoso e dell'apparato del Golgi ed un elevato contenuto di piccoli granuli (50-60 nm) con core elettrondenso, immunoreattivi per PTH e precursori.

Tali sotto-tipi cellulari rappresentano, in realtà, due fasi funzionali diverse e, in particolare, le cellule “chiare” sono in fase di momentanea inattività, mentre le cellule “scure” sono in fase di attiva sintesi e secrezione del PTH.

Cellule C-parafollicolari della tiroide

Le cellule C derivano dalla cresta neurale e si localizzano nella tiroide, tra le cellule epiteliali follicolari tiroidee.

Da un punto di vista morfologico sono grandi cellule rotondeggianti, caratteristicamente localizzate in corrispondenza del versante baso-laterale dei tireociti o raggruppate in piccoli “clusters” attorno ai capillari stromali.

Il nucleo, centrale, presenta grandi dimensioni e, caratteristicamente, l'apparato del Golgi è prominente e localizzato in posizione paranucleare. I granuli secretori hanno dimensioni comprese tra 100 e 200 nm e sono immuno-positivi per la Calcitonina, prodotto di secrezione tipico, i suoi precursori e, talvolta, anche per la Serotonina (34).

Cellule della midollare surrenale

La midollare surrenale è completamente circondata dalla regione corticosurrenale, embriologicamente e funzionalmente distinta. Le cellule midollari sono di grandi dimensioni e polimorfe, poichè la loro geometria è determinata dalla stretta connessione con il ricco micro-circolo midollare. Il nucleo è sferico e centrale ed il citoplasma è stipato di granuli che esibiscono la tipica cromaffinità.

Le cellule midollari producono tipicamente Norepinefrina (NE) [Noredrenalina (NA)] e, per attivazione cortisolo-mediata di un'enzima metilante la NE (*feniletanolamina-N-metil-transferasi* PNMT), Epinefrina (E) [Adrenalina (A)] (35).

Cellule del Glomo Carotideo e dei Paragangli

Sono piccole cellule cromaffini strettamente correlate ai gangli ed alle fibre nervose del Sistema Nervoso Simpatico e formano, con le cellule midollari surrenali, il Sistema Simpatico Cromaffine.

E' importante sottolineare che la differenziazione neuroendocrina di tali elementi cellulari si enfatizza particolarmente in caso di neoplasia (es. paraganglioma) (36).

Cellule del DNES Gastro-Entero-Pancreatico

Le cellule neuroendocrine associate al sistema GEP sono strettamente correlate alle cellule epiteliali e, spesso, sono in contatto diretto con il lume degli organi gastro-enterici: in questo caso presentano caratteristiche ultrastrutturali legate a funzioni “recettoriali”. Tali cellule sono definite “open pole type” ad indicare la loro capacità di ottenere importanti informazioni biologiche dall'ambiente luminale.

Le cellule che non sono in contatto con il lume vengono invece denominate “closed pole type” di cui è stata ben identificata la polarità funzionale. Le cellule presentano un apparato del Golgi in posizione soprannucleare, vari tipi di granuli secretori (in relazione al tipo di secrezione) e vescicole allungate rilevabili, insieme alle cisterne del reticolo endoplasmatico liscio, tra l'apparato del Golgi e la superficie cellulare.

Nel compartimento baso-laterale sono invece identificabili granuli secretori il cui contenuto può essere riversato negli spazi e nelle giunzioni intercellulari ovvero a livello dei capillari.

Questa articolazione organizzativa consente ai prodotti ormonali delle cellule GEP di entrare in contatto con altre cellule prima di raggiungere il circolo sistemico: pertanto oltre al classico effetto “a distanza” (endocrino) è possibile la modulazione di fenomeni biologici mediante meccanismi paracrini (37).

Messaggeri e mediatori biologici del sistema neuroendocrino gastroenteropancreatico

Nel 1902 Starling e Bayliss postularono l'esistenza di una sostanza, la “secretina”, rilasciata dalla mucosa del piccolo intestino ed attiva, attraverso la circolazione, sul pancreas esocrino: in tale occasione venne impiegato per la prima volta il termine “ormone” (38). Furono tuttavia necessari oltre 60 anni per giungere alla definizione della struttura chimica della secretina: le ragioni risiedono nell'estrema complessità del sistema e nell'esistenza di famiglie di ormoni GEP, strettamente correlati, che presentano un'ampia sovrapposizione strutturale e funzionale. Inoltre, molti peptidi sono presenti in diverse isoforme: tra i maggiori ormoni GEP solo la secretina, infatti, esiste in forma unica e la presenza di multiple isoforme, sia nei tessuti che nel circolo ematico, complica ed ostacola la definizione dell'esatto numero, della natura chimica e della funzione biologica di queste molecole. Il concetto di precursore ormonale e di prodotti di clivaggio (pre-ormone) ha consentito una successiva chiarificazione della fisiopatologia degli ormoni GEP ed il “raggruppamento” in famiglie di molecole con struttura parzialmente comune e derivazione omogenea.

Esistono tuttavia molte varianti relative alla loro sintesi, secrezione ed alla loro funzione biologica ed è possibile rilevare in circolo la presenza di ormoni GEP in forme eterogenee e, spesso, associata alla espressione di precursori o altri frammenti molecolari la cui funzione biologica è incerta. La regolazione di questi peptidi è soggetta infine a molti, differenti, meccanismi fisiologici ed a molteplici influenze da parte di varie alterazioni fisiopatologiche. La regolazione dei geni sottesi all'espressione di tali molecole può essere più o meno repressa in accordo con il grado di differenziazione ed attivazione cellulare.

Successivamente alla loro sintesi e secrezione (esocitosi) gli ormoni GEP raggiungono i recettori situati sulle cellule-target e possono elicitarne una risposta biologica secondo diversi meccanismi. Le modalità di azione degli ormoni GEP sono riconducibili a quattro fondamentali modelli:

- **ENDOCRINO:** diffusione attraverso il circolo ematico
- **PARACRINO:** diffusione locale alle cellule circostanti
- **ESOCRINO:** escrezione dal polo apicale nel lume gastroenterico dove si collocano le cellule target
- **AUTOCRINO:** trasmissione dell'informazione alla stessa cellula che sintetizza il messaggero

I mediatori biologici localizzati a livello del sistema neuroendocrino GEP sono rilevabili anche nel Sistema Nervoso Centrale (SNC) ed a livello dei gangli e delle terminazioni del Sistema Nervoso Periferico (SNP).

I peptidi del sistema GEP possono essere caratterizzati sulla base della loro attività biologica (Tabella 6) in relazione alla appartenenza a raggruppamenti di molecole, con analoga struttura (Tabella 7) oppure in relazione alla loro localizzazione topografica (Tabella 8) (39, 40, 41).

Peptidi ad attività ormonale	Neuropeptidi	Fattori di crescita
Gastrina	Bombesina	<u>Ormoni:</u>
Somatostatina	CCK	Gastrina
Insulina	CGCP	CCK
Glucagone	Dinorfina	<u>Neuropeptidi:</u>
PP	Enkefalina	GRP
Secretina	Galanina	<u>Peptidi locali:</u>
CCK	Neuromedina B	IGF-I
Motilina	Neuromedina N	IGF-II
Peptide YY	Neurotensina	EGF/urogastone
Oxintomodulina	NPY	PDGF
Neurotensina	Somatostatina	FDGF
GIP	Sostanza K	
	Sostanza P	
	VIP	
	Gastrina	

Tabella 6. Classificazione funzionale dei peptidi GEP.

Famiglie	Prodotti
Gastrina/CCK	Gastrina, CCK
Secretina/glucagone/VIP	Secretina, Glucagone, Oxintomodulina, Glicentina, PHI, GHRF, GIP, VIP
Polipeptide pancreatico	PP, peptide YY, NPY
Tachichinine/bombesina	Sostanza P, Sostanza K, GRP27, GRP10, Neuromedina K, Neuromedina B
Peptidi oppioidi	Proenkefalina, pro-opio-melano-cortina (POMC), predinorfina
Insulina	Insulina, IGF-I/II, Amilina
EGF (urogastrone)	EGF, TGF
Somatostatina	Somatostatina
Calcitonina	Calcitonina, CGRP
Peptidi non raggruppabili	Galanina, Neurotensina, TSH

Tabella 7. Classificazione e raggruppamento strutturale dei peptidi GEP.

Ormoni	Localizzazione anatomica	Attività biologica prevalente
Gastrina	Antro gastrico duodeno	Secrezione gastrica acida Secrezione di pepsina
CCK	Duodeno/digiuno	Secrezione amilasi pancreatica
Secretina	Duodeno/digiuno	Secrezione bicarbonati pancreatici
GIP	Piccolo intestino	Incremento release insulina (glucosio-indotto). Inibizione secrezione gastrica
VIP	Pancreas	Rilassamento muscolo liscio Secrezione bicarbonati pancreatici
Motilina	Piccolo intestino	Promozione motilità intestinale
Somatostatina	Stomaco, duodeno, pancreas	Effetto inibitorio multiplo
PP	Pancreas	Inibizione secrezione pancreatica
Enkefaline	Stomaco, duodeno, colecisti	Attività simil-oppioide
Sostanza P	Tratto gastro-enterico	
Bombesin-like immuno-reactivity	Stomaco, duodeno	Release gastrina / CCK
Neurotensina	Ileo	
Enteroglucagone	Pancreas, piccolo intestino	

Tabella 8. Topografia e funzione biologica prevalente degli ormoni GEP.

In Tabella 9 vengono riportate, in forma di quadro sinottico, le cellule del DNES, la loro relazione con gli organi e gli apparati in cui sono rilevabili (localizzazione topografica) ed gli specifici prodotti ormonali di secrezione (42).

Organo/Apparato	Tipo cellulare	Prodotti di secrezione	
Ipofisi	cell. corticotrope	ACTH, beta-LPH, MSH, Endorfine (POMC-gene)	
	cell. somatotrope	hGH	
	cell. lattotrope	PRL	
	cell. follicolo-stellate	fattore di crescita basico dei fibroblasti	
	cell. tireotrope	TSH	
	cell. ad FSH o LH	FSH/LH	
Tiroide	cellule C para-follicolari	Calcitonina (CT)	
Paratiroidi	cellule principali	Paratormone (PTH)	
Paragangli	cellule cromaffini	Norepinefrina	
Midollare surrenale	cellule noradrenergiche	Norepinefrina	
	cellule adrenergiche	Epinefrina	
Polmone	cellule P	Bombesina	
Apparato Digerente	cellule G, IG	Gastrina	
	cellule CCK	Colecistochinina	
	cellule S	Secretina	
	EC cells		Serotonina
			Motilina
		SP	
		Enkefaline	
	cellule A ₂	Glucagone, Enteroglucagone	
	cellule B	Insulina	
	EC _L cells	Istamina	
	cellule D, A ₁	Somatostatina	
	cellule D ₁ , P	Bombesina	
	cellule N	Neurotensina	
	cellule GIP	Gastric Inhibiting Peptide	
cellule D ₁ , F	Polipeptide Pancreatico		
cellule L	Glicentina		

continua

Sistema Nervoso Centrale	Fibre e Neuroni	Endorfine-Enkefaline VIP, Bombesina, SP, CCK, Neurotensina, Gastrina, Serotonina, Norepinefrina
Sistema Nervoso Periferico	Fibre e Neuroni	VIP, SP, Norepinefrina, Bombesina, Somatostatina, Enkefaline, Neurotensina, ATP
Sistema Nervoso Gastro-Enterico	Fibre nervose	VIP, Bombesina, CCK, Gastrina, Serotonina, Neurotensina, Enkefaline, Somatostatina, Polipeptide Pancreatico, Ach, ATP

Tabella 9. Cellule del sistema neuroendocrino diffuso umano.

Tumori neuroendocrini

I tumori neuroendocrini (NET) sono neoplasie ubiquitarie che originano dalle cellule appartenenti al DNES o al CNES: in base a quanto definito nelle sezioni introduttive il termine “APUD-oma”, nonostante il suo ampio utilizzo per indicare i tumori neuroendocrini, non può comprendere le neoplasie derivate da tutte le popolazioni cellulari rilevabili nei tessuti neoplastici, sia in base ai criteri classificativi embriologici che biochimici (43). Pertanto le teorie che considerano i NET come APUD-omi produttori amine e peptidi, ad esclusiva origine neuroectodermica, non sono attualmente accettabili: infatti alcuni istotipi tumorali traggono origine da cellule pluripotenti mentre altre non presentano le caratteristiche biologiche e biochimiche peculiari del sistema APUD (44). Secondo le conoscenze attuali, il termine “neuroendocrino” definisce quelle cellule, ed i tumori da queste derivati, di origine sia ectodermica che endodermica capaci di sintetizzare, immagazzinare e secerne mediatori biologici e/o i loro precursori con modalità endocrina, paracrina, neurocrina e autocrina, nonché enzimi di tipo neuronale e neurotrasmettitori (45).

I NET sono quindi “neoplasie derivanti da cellule staminali pluripotenti o da cellule neuroendocrine differenziate, caratterizzate da un particolare pattern istologico e dalla presenza di prodotti di secrezione e di proteine citoplasmatiche caratteristiche”. In generale queste neoplasie sono caratterizzate da una bassa incidenza e da una aggressività biologica e clinica relativamente limitata. Inoltre, possono mantenere ed enfatizzare l’attività secretiva delle cellule originarie, determinando quadri sindromici (Biologically Active Neuroendocrine Tumors - BANTs) oppure risultare, per molteplici concausalità (vedi Tabella 10) biologicamente inattivi (Biologically Inactive Neuroendocrine Tumors - BINTs).

La produzione e increzione di mediatori biologici può avvenire con modalità entopica oppure ectopica. I NET “entopici” (o eutopici) sono rappresentati da neoplasie che sintetizzano sostanze fisiologicamente prodotte dal tipo di tessuto da cui si sviluppano (organi con componente endocrina): in questo caso la sindrome clinica è il risultato di una autonomizzazione funzionale probabilmente legata a una condizione di iper-espressione genica, incontrollata, da parte del tessuto tumorale. I NET “ectopici” invece producono sostanze che, in condizioni normali, non vengono espresse dai tessuti interessati. L’acquisizione di questa nuova funzione secretoria, differente dalla primitiva attività funzionale tipica del tessuto, sembra essere legata a meccanismi di de-repressione ed iper-espressione genica tipica dei fenomeni di de-differenziazione delle cellule tumorali.

- Deficit di sintesi ormonale
- Deficit di secrezione ormonale
- Rapida degradazione periferica
- Sintesi di frammenti molecolari inattivi
- Sintesi di precursori inattivi
- Sintesi e secrezione di ormoni non attivi
- Deficit recettoriale
- Saturazione recettoriale
- Secrezione di ormoni antagonisti
- Attività biologica sub-clinica
- Esaurimento funzionale della neoplasia
- Modificazioni strutturali inattivanti
- Secrezione episodica o ritmica

Tabella 10. Cause di possibile inattività biologica di neoplasie neuro - endocrine.

Infine, su base anatomico-topografica, i NET possono essere distinti in base alla loro sede di insorgenza in tumori derivanti dal sistema GEP (Gastro-Entero-Pancreatico), per quelli interessanti il compartimento addominale, e tumori non-GEP per indicare quelli che insorgono in altri distretti corporei.

Classificazione

I problemi che si presentano di fronte ad un approccio classificativo dei NET risultano fundamentalmente sottesi ai seguenti fattori:

- contemporaneo coinvolgimento di popolazioni cellulari diverse
- frequente ipersecrezione pluri-ormonale, anche da parte di una singola popolazione cellulare
- esistenza di tumori contenenti o produttori esclusivamente enzimi di tipo neuronale
- esistenza di tumori misti caratterizzati da una componente sia neuroendocrina che esocrina carcinomatosa (mixed-tumours)
- possibili modificazioni, spontanee o conseguenti a terapia, della secrezione da parte del tumore

In letteratura sono riportate numerose classificazioni dei NET, fondate essenzialmente su criteri anatomo-patologici e/o clinici: la classificazione più valida, completa ed utilizzata è attualmente basata sulle sostanze ormonali presenti nei tessuti neoplastici e/o nel sangue periferico. Questa può essere utilizzata sia per i tumori biologicamente attivi che per quelli inattivi in cui sia possibile eseguire una immunotipizzazione cellulare.

Ad esempio, si possono classificare somatostatini biologicamente attivi (BANT-SS) o somatostatini biologicamente inattivi (BINT-SS) oppure insulinomi biologicamente attivi e insulinomi biologicamente inattivi... In caso di BANT plurisecernente il tumore viene classificato non in base all'aumento dei valori ormonali plasmatici bensì in relazione all'ormone responsabile della sindrome clinica: il fatto di non considerare le caratteristiche di multisecretorietà e di non contemplare BINTs che producano e contengano esclusivamente enzimi di tipo neuronale (le cui cellule non possono essere quindi tipizzate su base ormonale) rappresenta la maggiore limitazione della classificazione ormonale. Per ovviare a queste limitazioni è possibile raggruppare i NET in 3 principali categorie:

1. NET le cui cellule possono essere tipizzate, sia biologicamente attivi (vedi Tabella 11) che inattivi.
2. NET le cui cellule non possono essere tipizzate, rappresentati esclusivamente da forme biologicamente inattive
3. Tumori con una componente mista neuroendocrina ed esocrino-carcinomatosa (cellule tipizzabili o meno), quasi esclusivamente biologicamente inattivi

Neoplasia	Sostanza secreta
carcinoide EC	serotonina, sostanza P, VIP
carcinoide EC _L	istamina, 5-HTP, ACTH, epinefrina, MSH
insulinoma	insulina, polipeptide pancreatico
gastrinoma	gastrina, polipeptide pancreatico
glucagonoma	glucagone, polipeptide pancreatico, calcitonina
VIP-oma	VIP, polipeptide pancreatico
somatostatinoma	somatostatina
PP-oma	polipeptide pancreatico, VIP
neurotensinoma	neurotensina, VIP, polipeptide pancreatico, calcitonina, enkefalina
enteroglucagonoma	enteroglucagone
bombesinoma	GRP, polipeptide pancreatico, calcitonina, serotonina
ca midollare tiroideo	calcitonina
microcitoma polmonare	ACTH, PTH, calcitonina
feocromocitoma	catecolamine

Tabella 11. Tumori neuroendocrini funzionanti: prodotti di secrezione.

L'estrema varietà di cellule appartenenti al sistema neuroendocrino (diffuso e confinato) sottende la possibilità che, per ogni tipologia cellulare, esista la possibilità di una trasformazione neoplastica.

Si illustreranno di seguito le principali caratteristiche dei tumori neuroendocrini, suddivisi per distretti corporei.

Tumori neuroendocrini del tratto gastro-entero-pancreatico (GEP)

Derivano dalle cellule neuroendocrine del tratto gastrointestinale e venivano, in passato, definiti “in toto” come carcinoidi: successivamente, sulla base di evidenze istologiche, funzionali e cliniche la loro classificazione è stata articolata separando il tumore carcinoidale dai tumori endocrini pancreatici: la sotto-classificazione del carcinoidale si basa sulla attività secretiva (EC-cell ed EC_L-cell) e sulla localizzazione anatomica della neoplasia mentre i tumori endocrini pancreatici vengono caratterizzati sulla base della loro proprietà funzionale (biosintetica e secretiva) e della loro differenziazione funzionale (46).

Sindrome	Tipo cellulare	Manifestazioni cliniche	% malignità	Mediatori
s. carcinoidale	EC-cell EC _L -cell	flushing, diarrea ipotensione, asma	100	5-HT istamina peptidi vari
s. Zollinger-Ellison	cell.insulari non-cell.G duodenali	ulcera peptica diarrea	70	gastrina
insulinoma	cell.insulari	ipoglicemia	10	insulina
VIPoma	cell. insulari D ₁	diarrea, ipo-k+ ipocloridria	60	VIP
glucagonoma	cell.insulari	DM, eritema necrotizzante migrante, glossite	>75	glucagone
somatostatina	cell.insulari D	DM, diarrea, steatorrea colelitiasi	70	somatostatina
hGH-RHoma	cell.insulari non-	acromegalia	?	hGH-RH
PP-oma	cell.insulari PP	eritema necrotizzante (raro)	?	PP
s. da ACTH/CRH	cell.insulari non-	s. di Cushing	?	CRH
neurotensinoma	cell.insulari non-	diarrea	?	neurotensina

Tabella 12. Sindromi cliniche dei NET-GEP biologicamente funzionanti (GEP-BANTs).

Tumori carcinoidi a cellule enterocromaffini (EC-cells)

I tumori carcinoidi sono neoplasie ubiquitarie derivanti da cellule EnteroCromaffini (EC-cells) che, a loro volta, costituiscono la serie cellulare prevalente nel DNES. Generalmente il tumore carcinoidale insorge nell'area GEP ma può essere rilevato, non infrequentemente, in distretti non-GEP, principalmente in ambito toracico. Il carcinoidale può presentarsi con carattere sporadico oppure costituire una manifestazione di sindromi a carattere familiare.

Queste neoplasie sono state caratterizzate e definite con numerosi sinonimi (enterocromaffinoma, argentaffinoma, EC-oma, EC cell tumour, EC cell carcinoid, syndrome of Thorson and Bjork, carcinoid syndrome, carcinoid tumour, diarrheogenic syndrome) basate su caratteristiche strutturali della neoplasia, sul nome dell'Autore che le ha descritte o su effetti clinici sindromici prodotti dalla neoplasia.

Una certa confusione è sicuramente derivata dal fatto che, in epoca precedente lo sviluppo dei metodi RIA e delle tecniche immunoistochimiche, ogni neoplasia con pattern strutturale neuroendocrino veniva definita come "carcinoidale". Il successivo sviluppo delle tecniche RIA, immunoistochimiche, la disponibilità della microscopia elettronica e delle metodiche di "ibridazione in situ" hanno permesso di ri-classificare le neoplasie neuroendocrine in base al tipo cellulare dominante o alla attività biologico-clinica della neoplasia (47).

Etiologia e patogenesi

L'etiologia non è conosciuta: in base alla possibile espressione familiare della malattia è stato ipotizzato un coinvolgimento genetico. Altre teorie riguardano la localizzazione anatomo-topografica delle cellule di origine della neoplasia e correlano, ad esempio, l'insorgenza di carcinoidi pancreatici alla anomala persistenza di cellule EC, normalmente presenti a tale livello solo nel corso della vita fetale.

Vi è evidenza di una possibile evoluzione verso il carcinoidale di stati iperplasici a carico di cellule endocrine come accade, ad esempio, a livello gastrico: nei pazienti con ipocloridria e secondariamente ipergastrinemici, la stimolazione della mucosa gastrica può produrre dapprima iperplasia e successivamente neoplasie delle cellule EC_L.

Carcinoidi del colon sono stati osservati in associazione con il morbo celiaco e le malattie infiammatorie croniche intestinali (morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa/RCU): ciò ha consentito di ipotizzare la possibile azione iperplasizzante e trasformante sulle cellule endocrine da parte dello stimolo flo-gistico cronico.

Popolazioni cellulari e mediatori biologici

I carcinoidi derivano da diverse sottopopolazioni di cellule EC, classificate in base a caratteri embriologici, anatomici, istochimici e biologici.

Carcinoidi derivati dal tratto gastro-enterico prossimale (foregut)

- Stomaco
- Duodeno prossimale
- Vie biliari
- Pancreas

Le cellule di questo compartimento producono istamina, 5-idrossi-triptofano (5-HTP) e, a volte, ACTH.

Queste neoplasie originano da cellule EC_L (EnteroChromaffin-Like) argirofile e non argentaffini e producono le cosiddette "sindromi atipiche". L'eccessiva produzione di 5-HTP dipende dalla perdita, a livello gastrico, dell'espressione dell'enzima *L-aminoacido-decarbossilasi* con mancata conversione da 5-HTP a Serotonina (5-HT).

Carcinoidi derivati dal tratto gastro-enterico intermedio (midgut)

- dalla seconda parte del duodeno alla flessura splenica del colon

Questi tumori producono serotonina, bradichinina, tachichinina, prostaglandine e possono produrre ACTH ed altre sostanze. Causano sindromi diarroiche e "sindromi da carcinoide" tipiche.

Carcinoidi dell'intestino distale (hindgut)

- colon discendente
- sigma-retto
- ano

Originano da numerose popolazioni cellulari (cellule L, PP, D, EC, N....) e sono generalmente inattivi dal punto di vista biologico: solo eccezionalmente possono produrre istamina e 5-HTP.

Da un punto di vista clinico i tumori del tratto medio più frequentemente danno luogo alla sindrome da carcinoide tipica. I tumori carcinoidi biologicamente attivi (Biologically Active Carcinoid/BAC) sono caratterizzati da peculiari segni clinici e sintomi:

1. **sintomi cutanei:** flushing (80% dei casi), teleangectasie (50%), sindrome simil-pellagra (5%), melanosi
2. **sintomi gastro-intestinali:** diarrea (76%), epatomegalia (70%), dolore addominale

3. sintomi cardio-vascolari: cardiopatie (53%), ipotensione, ipertensione, cefalea, lipotimie

4. sintomi respiratori: broncocostrizione (26%), fibrosi polmonare

Mentre in passato la sindrome da carcinoide era considerata sottesa ad iperincrezione della sola serotonina, è stato successivamente dimostrato il coinvolgimento di numerosi altri mediatori biologici appartenenti alle famiglie dei peptidi oppioidi (β -endorfine, enkefaline), delle bradichinine e tachichinine (sostanza P, neuropeptide K, neurochinine A e B) (48).

Studi immunoistochimici accurati hanno dimostrato il coinvolgimento di molte popolazioni cellulari "minori" nel determinismo della sindrome chiarendo, nel contempo, le differenze esistenti rispetto al cosiddetto "carcinoide atipico" che origina da popolazioni di cellule EC_L e la cui forma biologicamente attiva non produce serotonina ma istamina. Il tumore carcinoide EC_L-cells è pertanto una distinta entità patologica con implicazioni fisiopatologiche e cliniche peculiari (49).

Manifestazioni cliniche	Frequenza (%)	Possibili mediatori
Diarrea	76	5-HT, istamina, prostaglandine, VIP, glucagone, gastrina, calcitonina
Flushing	80	5-HT, 5-HTP, callicreine, neurochinine, istamina, sostanza P, prostaglandine
Dispnea (broncocostrizione)	26	5-HT, istamina
Cardiopatìa	53	5-HT
cuore destro	40	
cuore sinistro	13	
Dermatopatia	7	deplezione di triptofano (aumentata sintesi 5-HTP)
Dolori addominali*	51	fibrosi retro-peritoneale *effetto diretto massa tumorale

Tabella 13. Mediatori della sindrome da carcinoide.

Embriogenesi	Localizzazione	Sindrome		
		Frequenza (%)	Caratteristiche	Peptidi
Tratto GE prox. [Foregut]	BRONCO	3.5	Flushing intenso Lacrimazione Scialorrea Edema facciale Diarrea Dispnea Cardiopatia	5-HT Istamina
	STOMACO	5	Flushing intenso, a margini netti, esteso a tutto il corpo	5-HTP Istamina
Tratto GE medio [Midgut]	DUODENO-DIGIUNO	40	Dispnea Prurito Diarrea	5-HT
	PANCREAS-VIE BILIARI	raro	Eritema necrotizzante Flushing facciale Teleangectasie Cardiopatia Fibrosi retroperitoneale Diarrea	5-HT Istamina
	ILEO	1		
	APPENDICE	0.3-0.7% delle appendicectomie		
	COLON	raro	Flushing facciale	5-HT
Tratto GE distale [Hindgut]	RETTO	raro	Diarrea	

Tabella 14. Caratteristiche dei tumori carcinoidi.

Clinica

I tumori carcinoidi possono manifestarsi clinicamente con segni specifici quali: sanguinamento intestinale, dolori addominali, occlusione intestinale (effetto “massa” della neoplasia e/o fibrosi retro-peritoneale) o per sintomi legati alla secrezione ormonale. La progressione della malattia è generalmente lenta ed indolente e l’intervallo medio fra insorgenza dei sintomi e diagnosi clinica risulta di circa 4.5 anni.

Il sospetto clinico ed il successivo iter diagnostico sono influenzati dalle modalità di presentazione: nel caso di Biologically Inactive Carcinoids

(BICs) la sintomatologia è aspecifica e legata agli effetti diretti della massa tumorale sul tratto GE: dolore e tensione addominale, nausea e malessere generale, calo ponderale, occlusione intestinale e/o biliare e sanguinamento intestinale.

In questi casi la neoplasia può essere localizzata mediante studi endoscopici ed eco-endoscopici, studi radiologici con mdc (incluso il clisma a doppio mdc del piccolo intestino per identificare neoplasie digiuno-ileali), ecografia e tomografia computerizzata (TC). Nonostante l'innegabile miglioramento nella identificazione e localizzazione di tali neoplasie, la natura delle lesioni rimane spesso clinicamente insospettata e viene rivelata solo dall'esame istologico dopo resezione chirurgica o biopsia epatica.

Viceversa, l'osservazione che la serotonina (5-HT) viene sintetizzata e secreta dalla maggior parte dei carcinoidi funzionanti, [secondo le modalità illustrate in Figura 3 (50)], è alla base della valutazione dei pazienti sindromici e affetti da Biologically Active Carcinoids (BACs).

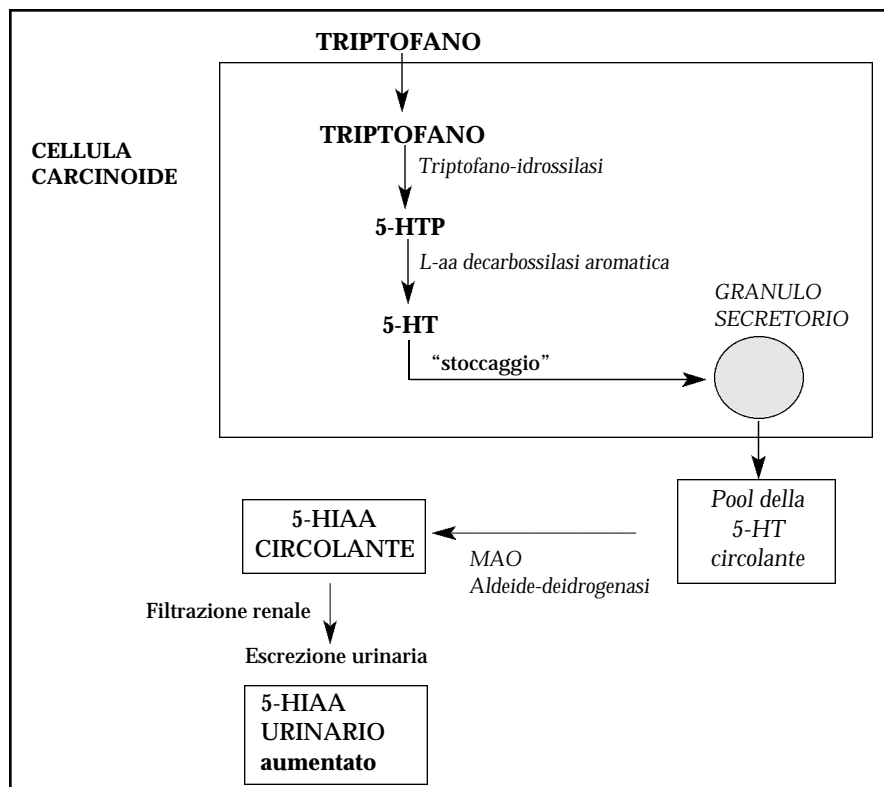


Figura 3. Biosintesi e metabolismo della 5-HT nelle cellule di carcinoidi funzionante

Determinazione del 5-HIAA urinario

Circa il 75% dei pazienti portatori di BAC presenta una escrezione urinaria di 5-HIAA superiore a 80 nmol/die (15 mg/die). La specificità approssima il 100% solo dopo accurata esclusione di alimenti e farmaci potenzialmente interferenti e di patologie che possano causare falsi-positivi (Tabella 15).

Alimenti

Avocado, banane, kiwi, prugne, mele, ananas, melanzane, noci, arachidi, caffè, cioccolato

Farmaci

Acetaminofene, acido acetilsalicilico, caffeina, paracetamolo, soluzione di Lugol, melphalan, metisergide maleato, reserpina, ACTH, clorpromazina, eparina, isoniazide, metil-DOPA, prometazina, levo-DOPA, fenotiazine, nicotina, inibitori delle MAO, somatostatina, octreotide, amfetamine, dicumaroli, 5-fluorouracile

Patologie

Occlusione intestinale, sprue non-tropicale, insufficienza renale, insufficienza epatica

Tabella 15. Fattori interferenti la determinazione del 5-HIAA urinario.

In alcuni pazienti con normale 5-HIAA urinario, il dosaggio della 5-HT plasmatica e/o piastrinica può consentire la diagnosi. In alcuni casi di BAC del tratto GE prossimale è possibile rilevare la riduzione dell'enzima *L-aa decarbossilasi aromatica* con scarsa conversione da 5-HTP a 5-HT e conseguente scarsa escrezione urinaria di 5-HIAA. In questo caso la diagnosi può avvenire mediante dosaggio del 5-HTP plasmatico, dell'istamina e di altri ormoni peptidici.

Nei casi in cui la storia clinica e la sintomatologia sindromica siano dubbi o sfumati è possibile ricorrere a test di stimolazione:

- Test all'alcool
- Test alla pentagastrina
- Test alle catecolamine
- Test al calcio-gluconato

In caso di positiva risposta alla stimolazione si osserva, entro due ore dallo stimolo, la comparsa di flushing, ipotensione, dispnea e diarrea: in presenza di eccessiva risposta clinica può essere utile la somministrazione di octreotide per via endovenosa.

Poichè molti pazienti affetti da sindrome da carcinoide sono già portatori di metastasi epatiche al momento della diagnosi, l'agobiopsia epatica rappresenta il metodo più comune per ottenere una definitiva diagnosi istologica ed immunohistochimica.

Nella valutazione clinica della malattia vengono impiegate tecniche di imaging anatomico-strutturale (TC, RM, angiografia selettiva) per lo studio della localizzazione e della estensione della malattia, l'ecocardiografia e l'angiocardioscintigrafia all'equilibrio (ACSE) per lo studio delle complicanze cardiache e la scintigrafia ossea con ^{99m}Tc -difosfonati per lo screening delle metastasi ossee.

Il ruolo rivestito dal dosaggio della cromogranina-A e dalla scintigrafia con analoghi radiomarcanti della somatostatina, che hanno recentemente integrato le altre metodiche e modificato l'approccio diagnostico, saranno trattati organicamente in una sezione dedicata.

Tumori carcinoidi a cellule enterocromaffino-simili (EC_L-cells)

Il "carcinoide atipico" è un tumore neuroendocrino che origina, generalmente a livello gastrico, dalle cellule EC_L (enterochromaffin-like) e presenta alcune differenze rispetto ai tumori carcinoidi EC-cells.

La forma biologicamente attiva (BAC-EC_L cells) determina la cosiddetta "sindrome del carcinoide gastrico" ed è caratterizzata da normali livelli di gastrina circolante (forma normogastrinemia) mentre la forma inattiva (BIC-EC_L cells) è caratterizzata da elevati livelli di gastrina circolante (forma ipergastrinemia)

Le cellule EC_L costituiscono, in normali condizioni, la popolazione neuroendocrina dominante nella mucosa gastrica: in particolari condizioni fisiopatologiche quali la gastrite cronica atrofica non-antrale, la sindrome di Zollinger-Ellison, l'iperparatiroidismo sporadico o familiare oppure dopo terapie chirurgiche o trattamenti medici in grado di incrementare la concentrazione di gastrina, è possibile evidenziare una iperplasia e, successivamente, una possibile trasformazione neoplastica di queste cellule.

La neoplasia è generalmente inattiva ed origina dalle cellule della serie EC_L anche se può essere dimostrato il coinvolgimento di altre linee cellulari (EC, D, G, L, P, X, PP). Le forme attive sono rare e la sintomatologia clinica è caratterizzata da flushing rosso associato a cefalea, edema cutaneo facciale, ipotensione, scialorrea, rinorrea, lacrimazione, disfagia e, più raramente, diarrea, cardiopatia e broncocostrizione. Tali manifestazioni sono riconducibili alla ipersecrezione di istamina che può essere associata, a volte, ad ipersecrezione di 5-HTP e più raramente di ACTH, -MSH ed epinefrina.

- Gastrite Cronica Atrofica tipo A
- Gastrinoma familiare
- Iperparatiroidismo (sporadico e familiare)
- Gastrinoma sporadico trattato con anti-secretivi
- Procedure chirurgiche: *vagotomia, Billroth II, gastro-digiunostomia, piloroplastica, resezione fundica*
- Terapie antisecretive ad alto dosaggio per periodi prolungati

Tabella 16. Categorie di pazienti e condizioni a rischio per lo sviluppo di tumori carcinoidi EC_L.

Condizioni predisponenti individuali
Gastrite Cronica Atrofica non-antrale
Ipo-acloridria
Ipergastrinemia reattiva (in relazione a riduzione dell'acidità gastrica) oppure Ipergastrinemia primitiva (es. Sindrome di Zollinger-Ellison)
Iperplasia ed ipertrofia delle cellule EC_L
Metaplasia
Neoplasia non automantenentesi (fase gastrina-dipendente)
Neoplasia automantenentesi [produzione di fattori di crescita autocrini] (fase gastrina-indipendente)

Tabella 17 Fasi della progressione patogenetica dei tumori EC_L ipergastri-nemici.

Tumori neuroendocrini pancreatici

Le funzioni endocrine pancreatiche sono mediate dalle strutture insulari (insule pancreatiche del Langerhans) distribuite nel parenchima ghiandolare. Le insule mature sono composte da 4 tipi cellulari principali di cellule ad attività secretoria: le cellule A () secernenti **glucagone**, le cellule B () secernenti **insulina**, le cellule D () secernenti **somatostatina** e le cellule PP secernenti **polipeptide pancreatico**.

Ciascuna di queste cellule può secernere, oltre al prodotto ormonale principale, peptidi regolatori in basse concentrazioni. Durante lo sviluppo e la maturazione delle strutture insulari vengono sintetizzati e rilasciati diversi ormoni tra cui gastrina, peptide vasoattivo intestinale (VIP) ed ACTH.

I NET pancreatici possono derivare da ciascuno di questi tipi cellulari e possono secernere uno o più peptidi ormonali, determinando le conseguenti sindromi cliniche "umorali" (51).

GASTRINOMA

Nel 1955 Zollinger ed Ellison descrissero l'associazione di gravi quadri di ulcera peptica e tumori pancreatici secernenti gastrina. Tali neoplasie, attraverso la secrezione di elevate concentrazioni di gastrina, determinavano ipersecrezione gastrica acida e, conseguentemente, l'insorgenza di ulcere gastro-duodenali.

Il gastrinoma rappresenta il NET pancreatico più frequente e costituisce circa il 10% dei tumori neuroendocrini dell'area GEP, con una incidenza di circa 4 casi/10⁶ in popolazioni non pre-selezionate. Lo 0.1% dei pazienti affetti da ulcera peptica duodenale è un portatore di gastrinoma mentre tutti i pazienti affetti da gastrinoma presentano segni di patologia peptica gastro-duodenale, che costituisce il quadro di presentazione nel 70% dei casi. La distribuzione per età del gastrinoma mima quella della patologia peptica con massima rappresentazione tra la 5^a e l'8^a decade di età.

Il 50% dei pazienti manifesta diarrea, di tipo acquoso o di tipo steatorrico, che costituisce l'unico sintomo in circa il 30% dei casi.

Il gastrinoma dev'essere considerato, tra le ipotesi diagnostiche differenziali, in tutti i pazienti con ulcera peptica refrattaria e/o recidivante, ulcera associata ad ipertrofia gastrica, ulcera del duodeno distale o ulcere digiunali, associate a diarrea, nefrolitiasi, ipercalcemia, patologie ipofisarie ed anamnesi familiare o personale fortemente positiva per patologia peptica o per tumori neuroendocrini.

Una percentuale variabile tra il 25 ed il 50% dei pazienti con gastrinoma risulta affetta da sindrome MEN tipo 1: tutti i pazienti con gastrinoma dovranno, pertanto, essere sottoposti a screening per tale patologia.

Il gastrinoma si rileva a livello insulare pancreatico in circa l'80% dei casi (praticamente nella totalità dei casi MEN1-associati) con particolare interessamento della regione cefalica (52).

Circa il 10-15% delle neoplasie si localizzano invece a livello duodenale (cellule G) ed il rimanente 5-10% è rappresentato da localizzazioni atipiche: piccolo intestino distale, stomaco, milza, fegato, linfonodi, ovaio (cistoadenoma mucinoso). Le neoplasie sono spesso di piccole dimensioni, possono essere multifocali (specialmente nel quadro della MEN1) e la biologia tumorale è ampiamente variabile: in molte casistiche pubblicate caratteri di malignità sono rilevabili dal 50 al 70% dei casi (diffusione linfonodale, interessamento

epatico e, con minor frequenza, osseo). Come altre neoplasie del sistema neuroendocrino anche il gastrinoma presenta una progressione lenta: tuttavia la variabilità inter-individuale è ampia e, ad esempio, l'aggressività delle lesioni secondarie risulta maggiore rispetto al tumore primitivo (53).

INSULINOMA

La caratteristica biologico-clinica peculiare del tumore a cellule consiste nello sviluppo di ipoglicemia sintomatica da ipersecrezione, non regolata, di insulina. L'insulinoma rappresenta la seconda neoplasia del pancreas endocrino, con una incidenza di 8 casi/10⁷ in popolazioni non pre-selezionate e massima rappresentazione tra la 5^a e la 7^a decade anche se sono descritti e riportati casi in tutte le fasce di età.

La triade di Whipple, classica presentazione dell'insulinoma, comprende le seguenti manifestazioni:

1. Ipoglicemia a digiuno
2. Sintomatologia ipoglicemica
3. Immediato miglioramento dopo glucosio e.v.

L'incremento ponderale può conseguire all'aumentato introito alimentare messo in atto per contrastare i sintomi ipoglicemici. La diagnosi può essere confermata dal riscontro di ipoglicemia a digiuno, in presenza di livelli di insulina normali o elevati, a dimostrazione di inadeguata risposta insulinica allo stato ipoglicemico.

In relazione al possibile release di insulina con andamento episodico anche la sintomatologia può presentare caratteristiche di tipo accessoriale ed intermittente e può essere enfatizzata dal digiuno protratto.

La precoce insorgenza della sintomatologia tipica rende ragione del fatto che la diagnosi della neoplasia, generalmente, avviene quando la massa tumorale è di piccole dimensioni e la neoplasia risulta monolocalizzata. In circa il 10% dei casi, tuttavia, sono rilevabili tumori neuroendocrini primitivi multipli, particolarmente nel quadro della MEN tipo 1 di cui anche l'insulinoma può essere parte.

Sono rilevabili, con minore frequenza, forme extra-pancreatiche di insulinoma, che generalmente insorgono su aree di tessuto pancreatico ectopico.

Caratteri di malignità sono presenti in circa il 10% dei casi (diffusione linfonodale ed epatica) (54)

VIPOMA

Verner e Morrison descrissero un quadro sindromico caratterizzato da: diarrea acquosa, ipokaliemia ed insufficienza renale, associato a neoplasie del pancreas endocrino a cellule non-β. Tale quadro sindromico era soste-

nuto dalla secrezione di elevate concentrazioni di VIP da parte della neoplasia insulare.

Il VIPoma rappresenta il 2% circa dei GEP-NET con una incidenza di 1/10⁷. Le manifestazioni cliniche possono comprendere diarrea acquosa (>3 L/die), astenia profonda, ipokaliemia, ipocloridria con perdita fecale di bicarbonati ed acidosi metabolica. Circa 2/3 dei pazienti manifestano ipercalcemia ed ipofosforemia mentre il 50% dei pazienti sviluppa iperglicemia (derivante dall'ipokaliemia e dalla glicogenolisi epatica indotta dal VIP) ed il 20% manifesta flushing cutaneo. La neoplasia secerne altri peptidi (VIP-related peptide, istidina-metionina, somatostatina, neurotensina) che possono contribuire alle manifestazioni sindromiche nel singolo paziente.

Il principale criterio diagnostico consiste nel rilievo di elevati livelli plasmatici di VIP (metodo RIA) in presenza di diarrea acquosa importante (> 1 L/die). Moderati incrementi di VIP circolante possono essere rilevati anche nella insufficienza epatica e nella patologia ischemica intestinale. I VIPomi sono generalmente localizzati a livello del corpo e della coda del pancreas e raggiungono solitamente dimensioni significative prima di divenire sintomatici. Nel 10-15% dei casi, invece, la neoplasia deriva dalle cellule neuroendocrine della mucosa intestinale ed anche le seguenti neoplasie: ganglioneuroblastoma, mastocitoma, feocromocitoma e microcitoma polmonare (SCLC), possono secernere episodicamente VIP (55)

GLUCAGONOMA

Nel 1966 McGovern descrisse una rara forma di diabete mellito associato ad eritema necrotizzante migratorio ed alla presenza di tumore insulare pancreatico. Oltre all'eritema necrotico migrante ed al diabete mellito (solitamente di entità lieve-media), i pazienti possono manifestare glossite, stomatite, cheilite angolare e, in una minoranza di casi, anche perdita di peso, anemia e complicanze trombo-emboliche (56).

Il rilievo di una elevata secrezione di glucagone da parte di tali tumori ha identificato in questo ormone la causa del diabete. Il glucagone può anche partecipare alle genesi delle altre manifestazioni cliniche e, nonostante questi tumori possano secernere altri peptidi (polipeptide pancreatico, somatostatina, insulina e gastrina), il dato biologico maggiormente rilevante è costituito proprio dall'iper-glucagonemia.

Il glucagonoma è un tumore caratteristicamente monofocale, di grandi dimensioni, a lenta proliferazione: oltre il 75% dei casi presenta una diffusione metastatica al momento della diagnosi, più comunemente a livello epatico e scheletrico. Anche il glucagonoma può essere associato ad una sindrome MEN tipo 1. Il rilievo di concentrazioni plasmatiche di glucagone >1000 pg/mL (metodo RIA) a digiuno assume significato patognomonico mentre elevazioni meno marcate possono essere osservate anche in corso di chetoacidosi diabetica, insufficienza renale ed epatica cronica, sepsi, digiuno

prolungato ed enteropatia da glutine. L'iper-glucagonemia da glucagonoma può essere differenziata dalle forme secondarie in base alla sua non-responsività alla soppressione con glucosio.

SOMATOSTATINOMA

I tumori insulari secernenti somatostatina rappresentano il gruppo di NET-GEP sindromici di più recente identificazione. La triade clinica "classica" è rappresentata da:

1. Diabete mellito
2. Steatorrea
3. Colelitiasi

Tali manifestazioni possono essere ricondotte alle multiple attività di inibizione esercitate dalla molecola su release insulinico, secrezione pancreatica esocrina e motilità - contrattilità colecistica.

Il diabete è generalmente di grado moderato e può essere rilevata, occasionalmente, ipoglicemia probabilmente in relazione alla attività complementare di altre molecole ormonali secrete dalla neoplasia.

Singoli somatostatini hanno dimostrato attività sintetica e secretiva per: insulina, calcitonina, gastrina, VIP, ACTH, prostaglandine, sostanza P, motilina e glucagone.

Altre manifestazioni cliniche del SS-oma possono includere: calo ponderale, ipocloridria ed ipertensione parossistica.

Circa il 60% dei SS-omi sono localizzati in sede intra-pancreatica ed anche il piccolo intestino costituisce una sede non infrequente di localizzazione: a tale livello le neoplasie presentano, caratteristicamente, livelli meno elevati di somatostatina e risultano spesso asintomatici. Il SS-oma, analogamente al glucagonoma e al VIP-oma, è generalmente monofocale, di grandi dimensioni e spesso presenta metastasi al momento della diagnosi. Non è riportata associazione tra SS-omi e sindrome MEN tipo 1.

Secrezione ectopica di somatostatina è riportata da parte di microcitomi polmonari (SCLC), carcinoma midollare tiroideo (CMT), feocromocitoma e paragangliomi (57).

Oltre alle neoplasie descritte ed alle relative sindromi cliniche, sono note altre condizioni cliniche associate a tumori insulari funzionanti: acromegalia da secrezione ectopica di hGH o hGH-RH, ipercalcemia da PTH-related peptide (PTH-rp) o da secrezione ectopica di PTH, diarrea o diabete mellito da neurotensina e sindrome di Cushing da ACTH o CRH ectopico. La secrezione insulare di ACTH, da solo o in associazione ad altri peptidi, appare correlata ad una maggiore aggressività e malignità della neoplasia.

Tumori neuroendocrini pancreatici non-funzionanti

Oltre il 15% dei NET pancreatici non sono associati ad alcuna sindrome umorale definibile.

Tuttavia molte di queste neoplasie sintetizzano e rilasciano una o più molecole peptidiche quali polipeptide pancreatico, sostanza P o motilina.

Le neoplasie non-funzionanti sembrano, nel complesso, accomunate da alcune caratteristiche: localizzazione a livello cefalico o caudale, dimensioni frequentemente rilevanti (5-10 cm. di diametro) al momento della diagnosi. Le manifestazioni cliniche sono essenzialmente correlate all'effetto massa esercitato dalla neoplasia sulle strutture circostanti e comprendono: dolore addominale, ittero ostruttivo, malessere generale, sanguinamento da varici gastro-esofagee (compressione della vena splenica) e rilievo obiettivo di massa addominale palpabile. Nonostante un atteggiamento proliferativo di solito lento, oltre il 50% dei casi presenta, alla diagnosi, diffusione metastatica linfonodale e/o epatica (58).

Tumori neuroendocrini del tratto respiratorio

Una recente revisione dei criteri classificativi di tali neoplasie prevede la loro articolazione in tumori neuroendocrini benigni (carcinoide tipico), a basso grado di malignità (carcinoide atipico) e ad alto grado di malignità. Quest'ultima categoria viene ulteriormente sotto-classificata in: tumori neuroendocrini a grandi cellule, a cellularità mista e a piccole cellule (microcitoma polmonare).

Carcinoide bronchiale

Il carcinoide bronchiale rappresenta il 5% circa delle neoplasie polmonari, non è correlato al fumo di sigaretta o ad altri fattori ambientali ed è molto simile, dal punto di vista istopatologico ed ultrastrutturale, al carcinoide del tratto gastro-enterico. Istologicamente la neoplasia è composta da isole, cordoni e masse cellulari separate da uno stroma fibroso poco rappresentato: le singole cellule sono piuttosto regolari e presentano nuclei uniformi, rotondi e scarse mitosi. La microscopia elettronica può dimostrare i classici granuli secretori con "core" elettron-denso (59).

Le manifestazioni cliniche derivano, generalmente, dalla modalità di crescita endoluminale bronchiale della neoplasia mentre la proprietà di sintesi e secrezione di 5-HT da parte della neoplasia è incostante e, generalmente, non sono presenti segni clinici di carattere sindromico. Il carcinoide bronchiale tipico è generalmente benigno e non dimostra tendenza alla diffusione metastatica: l'exeresi chirurgica rappresenta pertanto una terapia definitiva. Il carcinoide atipico, viceversa, presenta più frequentemente aspetti aggressivi e può metastatizzare per via ematogena.

Microcitoma polmonare (SCLC)

Neoplasia altamente maligna, l'SCLC è costituito da cellule caratteristiche, piccole, con scarsa rappresentazione del citoplasma, a morfologia rotondeggiante od ovaliforme, talvolta con aspetti simil-linfocitici: tali ele-

menti cellulari sono definiti anche “oat-cell” o cellule a “seme d’avena”. Possono inoltre essere presenti altre forme cellulari, di aspetto fusato o poligonale, denominate cellule “intermedie”. Studi ultrastrutturali in microscopia elettronica dimostrano, talvolta, la presenza di granuli secretori: è in effetti rilevabile, in alcuni casi, una attività secretiva neuroendocrina propria delle cellule neoplastiche che può dar luogo a sindromi cliniche da secrezione endocrina ectopica (secrezione ectopica di calcitonina, CRH/ACTH, PTH).

L’insorgenza dello SCLC è strettamente legata al fumo di sigaretta. La neoplasia presenta generalmente localizzazione centrale o ilare, è altamente aggressiva ed è considerata da alcuni Autori una patologia “di per sè” sistemica. In ogni caso, al momento della diagnosi, l’estensione è generalmente tale da rendere impraticabile un approccio chirurgico (60).

La diagnostica del SCLC è fondata sull’imaging radiologico (Rx torace standard e TC), sulla fibrobroncoscopia e sull’esame cito-istologico.

L’*enolasi neurone specifica* (NSE) è un marcatore circolante utile nella diagnosi e nel monitoraggio della neoplasia: recentemente è stato dimostrato che l’associazione di un marcatore citocheratinico, il CYFRA 21.1, consente una più accurata stratificazione prognostica e l’impiego di un radiofarmaco oncotropo, il ^{99m}Tc -sestaMIBI, consente una valutazione “*in vivo*” della chemiosensibilità della neoplasia (61, 62).

Tumori della linea simpatico-midollare

Le cellule appartenenti a questo sistema derivano embriologicamente dalla cresta neurale e danno luogo alla formazione dei neuroni simpatici, della neuroglia, dei paragangli e delle cellule cromaffini della midollare surrenale. Le corrispondenti derivazioni neoplastiche sono: feocromocitoma, paraganglioma e neuroblastoma.

Feocromocitoma

I feocromocitomi sono tumori delle cellule cromaffini, secernenti catecolamine, e determinano caratteristicamente ipertensione arteriosa anche se il riscontro di feocromocitoma in pazienti ipertesi è infrequente (1 feocromocitoma/1000 ipertesi). Tuttavia, l'identificazione della malattia riveste molta importanza clinica poichè:

1. L'ipertensione da feocromocitoma è curabile con l'exeresi della neoplasia
2. I pazienti affetti da feocromocitoma sono a rischio di crisi parossistiche potenzialmente letali
3. Nel 15% dei casi i feocromocitomi presentano caratteri strutturali e biologici di malignità

La distribuzione delle cellule cromaffini nell'organismo è ampia e se il 90% dei feocromocitomi deriva dalla midollare surrenale, il restante 10% è ampiamente distribuito a livello del glomo carotideo, dei gangli simpatici para-vertebrali, dell'organo dello Zuckerkland (biforcazione dell'aorta addominale), dei gangli mediastinici posteriori. Feocromocitomi multipli, comprese le forme midollari bilaterali, sono rilevati in circa il 10% dei casi apparentemente sporadici, mentre le forme midollari bilaterali (associate o meno a localizzazioni extra-surrenaliche) sono pressochè costanti nelle MEN tipo 2. Nei familiari di pazienti affetti da MEN tipo 2 è, infatti, rilevabile iperplasia midollare surrenalica bilaterale: secondo alcuni Autori questo può essere interpretato come stadio propedeutico allo sviluppo di neoplasie multicentriche e giustificherebbe la surrenalectomia bilaterale profilattica. In generale, tuttavia, viene accettato un criterio clinico meno invasivo che prevede un accurato follow up dei soggetti a rischio.

Clinica

La maggior parte dei feocromocitomi secerne norepinefrina (NE) e, spesso, anche epinefrina (E) mentre solo raramente la neoplasia produce esclusivamente o principalmente epinefrina (E).

Le manifestazioni cliniche derivano solitamente dagli effetti delle catecolamine secrete dalla neoplasia mentre è particolarmente rara una sintomatologia da "effetto massa" tumorale.

I sintomi comuni del feocromocitoma sono costituiti da cefalea, palpitazioni e sudorazione profusa. Tali manifestazioni decorrono con carattere accessionale e sono associate a crisi ipertensive durante le quali il paziente appare pallido e sudato: la durata delle crisi è solitamente nell'ordine dei minuti ma in alcuni casi gli attacchi possono prolungarsi per ore.

L'associazione di algie addominali e/o toraciche, sintomi gastro-intestinali, astenia e sintomi visivi è possibile ma meno frequente e la tachicardia, nelle forme tipiche a prevalente secrezione di NE, non risulta particolarmente accentuata.

Lo stato ipertensivo è talora intermittente ma, di solito, è presente una ipertensione di base con notevoli oscillazioni e spikes in corso di crisi sintomatiche: questa fenomenologia può essere spiegata sulla base di un release episodico delle catecolamine anche se non è dimostrabile una stretta correlazione fra status pressorio e livelli di catecolamine circolanti.

I segni metabolici del feocromocitoma possono comprendere intolleranza al caldo e calo ponderale, a dimostrazione di un incremento della attività metabolica, diminuita secrezione insulinica e resistenza periferica all'insulina senza, generalmente, il manifestarsi di un quadro di diabete mellito conclamato.

I rari feocromocitomi secernenti principalmente E danno luogo ad episodi parossistici, caratterizzati da ipertensione sistolica, tachicardia, ipotensione, edema polmonare non-cardiogeno ed aritmie cardiache.

Diagnosi

Il sospetto clinico di feocromocitoma necessita di una conferma biochimica: la diagnosi di laboratorio è fondata sulla determinazione delle catecolamine, delle metanefrine e dell'acido vanilmandelico (VMA) nelle urine delle 24 ore. Quest'ultima risulta la determinazione maggiormente impiegata in fase di approccio ma è anche quella caratterizzata dal maggior numero di falsi negativi mentre, viceversa, le catecolamine risultano aumentate (> 2 volte il limite superiore) in oltre il 90% dei casi.

L'informazione biologica derivata da tali determinazioni è in ogni caso complementare poichè la catecolamine (e, probabilmente, le metanefrine) riflettono l'attività sintetica tumorale, mentre il VMA viene espresso in funzione della degradazione intra-tumorale delle catecolamine.

Recentemente, grazie ai metodi radio-enzimatici ed alla HPLC, è stato introdotto il dosaggio plasmatico delle catecolamine o la loro determinazio-

ne piastrinica: in relazione all'emivita di alcuni minuti, tali rilevazioni hanno significato puntiforme, mentre il dosaggio sulle urine delle 24 ore fornisce un dato integrale sulla attività biosintetica giornaliera. E' peraltro dimostrabile che i livelli basali delle catecolamine circolanti sono quasi sempre elevati nei pazienti affetti da feocromocitoma.

I test di stimolo utilizzati in passato (istamina, tiramina, glucagone e fentolamina) sono caratterizzati da bassa accuratezza diagnostica e risultano potenzialmente pericolosi per il paziente: il loro utilizzo in clinica dovrebbe pertanto essere eliminato. Viceversa è apparso promettente l'uso del test alla clonidina (0.3 mg. per os): la molecola ha infatti dimostrato di diminuire i livelli di catecolamine circolanti in pazienti ipertesi senza feocromocitoma ma non nei portatori della neoplasia.

I livelli circolanti di cromogranina-A risultano frequentemente elevati e l'utilizzo di questo marcatore nella diagnosi di feocromocitoma verrà discusso nella specifica sezione dedicata all'utilizzo diagnostico di tale molecola.

Successivamente alla conferma biochimica del sospetto clinico è necessario procedere alla localizzazione della neoplasia. I feocromocitomi non sono, di solito, identificabili mediante manovre semeiotiche ad eccezione dei tumori localizzati a livello del globo carotideo: in questo caso è possibile identificarli mediante palpazione cervicale accurata. I feocromocitomi mediastinici determinano spesso allargamento del mediastino visibile alla radiografia toracica standard mentre quelli a localizzazione vescicale si manifestano, caratteristicamente, con crisi parossistiche associate alla minzione.

In assenza di questi segni il feocromocitoma dev'essere considerato a localizzazione intra-addominale e, particolarmente, surrenalica: la TC è in grado di identificare la quasi totalità dei feocromocitomi midollari mentre la RM appare più sensibile nelle forme extra-midollari. Il dato morfologico, caratterizzato da elevata sensibilità, spesso non consente con certezza l'attribuzione di natura della lesione. La scintigrafia con [^{123/131}Iodio]-Meta-Iodo-Benzil-Guanidina (MIBG) valuta la funzione biologica della lesione e consente, inoltre, una esplorazione whole body: ciò determina una elevata specificità da un lato e la possibilità di identificare lesioni multicentriche o metastatiche dall'altro. In particolare la scintigrafia appare superiore a TC ed RM nello staging della neoplasia e nella identificazione di recidive in pazienti sottoposti a chemio e radioterapia (63).

Tumori del sistema simpatico-cromaffine

I feocromocitomi derivano da cellule differenziate, derivanti della cresta neurale (cellule cromaffini) mentre altre neoplasie possono derivare da cel-

lule più o meno differenziate in senso neuronale e comprendono, principalmente, i neuroblastomi ed i ganglioneuromi.

Mentre i ganglioneuromi sono generalmente neoplasie benigne, i neuroblastomi, che originano usualmente dalla midollare surrenale (40%) o dai gangli simpatici para-vertebrali addominali (25%), sono neoplasie ad elevata malignità. In casi meno comuni possono essere coinvolti anche i gangli mediastinici, pelvici o cervicali. Questi tumori producono comunemente catecolamine ma senza rilasciarne quantità attive, in grado di produrre sintomi clinici, probabilmente a causa di una elevata degradazione intra-tumorale (dimostrata dalla elevazione di VMA/HMA urinari in oltre il 90% dei pazienti). L'enolasi-neurone specifica (NSE) si è dimostrata un utile marcatore nel monitoraggio terapeutico e nella stratificazione prognostica della neoplasia. Il neuroblastoma rimane una neoplasia altamente maligna e richiede un approccio terapeutico aggressivo e complesso (chemioterapia, radioterapia, radioterapia metabolica con ¹³¹Iodio-MIBG, trapianto di midollo...) (64).

Carcinoma midollare tiroideo e neoplasie endocrine multiple

Carcinoma midollare tiroideo

Deriva dalle cellule C-parafollicolari tiroidee, caratterizzate dalla produzione di calcitonina (CT) e rappresenta il 5-10% di tutte le neoplasie tiroidee. La maggior parte delle neoplasie ha carattere sporadico ma il 20% circa dei carcinomi midollari tiroidei ha una presentazione familiare (legata alla sindrome MEN-2).

Il carcinoma midollare tiroideo (CMT) sporadico si presenta, generalmente, come formazione nodulare tiroidea: non è possibile di solito una diagnosi differenziale clinica e/o strumentale rispetto ad altre neoplasie tiroidee anche se il rilievo di elevate concentrazioni di Calcitonina circolante in presenza di un nodulo della tiroide è patognomonico della neoplasia. In relazione alla ridotta incidenza epidemiologica della neoplasia la maggior parte degli Autori concorda, tuttavia, nel non ritenere indicato lo screening mediante dosaggio della Calcitonina in pazienti con nodularità tiroidea.

Pertanto il nodulo tiroideo segue l'iter diagnostico consueto fondato sullo studio scintigrafico ed ecografico e, in ultima istanza, sulla tipizzazione citologica: in caso di sospetto citologico di CMT si impone il dosaggio IRMA della Calcitonina e la successiva exeresi radicale (tiroidectomia totale e linfadenectomia cervicale).

Sono utili nella diagnosi e, soprattutto, nel follow up del CMT indagini medico nucleari "in vivo" rappresentate dalla scintigrafia con ^{99m}Tc -DMSA pentavalente, $^{123/131}\text{I}$ -MIBG, ^{111}In -pentetotetide e, in relazione all'espressione tissutale e sierica dell'antigene carcinoembrionario (CEA), scintigrafia con Ab monoclonali radiomarcanti anti-CEA (65).

Neoplasie endocrine multiple

Sono caratterizzate dalle seguenti peculiarità biologiche e patologico-cliniche:

- Usualmente le neoplasie sono composte da uno o più tipi cellulari in grado di sintetizzare e secernere polipeptidi specifici e/o bio-ammine, appartenenti

al sistema APUD (in senso letterale ed embriogenetico): tali cellule derivano pertanto dalla cresta neurale e presentano alcune proprietà caratteristiche delle cellule neuronali. Possono tuttavia essere presenti, all'interno del quadro sindromico anche neoplasie non-APUD e, principalmente, i lipomi (MEN1) ed i ganglio-neuromi (MEN2B).

- Presenza di progressione istologica da una fase di iperplasia ad adenoma e, in alcuni casi, a carcinoma.
- Sviluppo multicentrico della fase iperplastica con derivazione monoclonale di ciascun focus tumorale (tale ipotesi è provata solo nel caso del carcinoma midollare tiroideo ma, verosimilmente, è applicabile anche alle altre neoplasie del quadro MEN).

Genetica delle MEN

Le MEN vengono trasmesse con modalità di tipo autosomico dominante: la MEN1 è causata dalla mutazione di un gene onco-soppressore situato sul braccio lungo del cromosoma 11 (menina) mentre la MEN2 è causata da mutazioni attivanti il proto-oncogene RET. Le più frequenti mutazioni rilevabili in questo caso determinano l'attivazione costitutiva del recettore tirosin-kinasico per il GDNF (fattore neurotrofico derivato dalle cellule gliali) con conseguente crescita incontrollata delle popolazioni cellulari coinvolte nel quadro della MEN2 (66).

Neoplasia endocrina multipla di tipo 1 (MEN-1)

Iperplasia o neoplasia (adenoma/carcinoma) delle cellule endocrine di:

- ADENOIPOFISI
- PARATIROIDI
- SISTEMA ENDOCRINO DUODENO-PANCREATICO

La MEN1 è stata riconosciuta dal punto di vista genetico e clinico nel 1954 da Werner ed è stata successivamente distinta dalle MEN2.

Manifestazioni Cliniche

1) Iperparatiroidismo primario (IPTH)

Costituisce la manifestazione più comune della MEN1: entro i 40 anni la maggior parte dei pazienti portatori del gene MEN1 sono ipercalcemici e presentano anomalie della secrezione del paratormone (PTH).

La più comune evidenza istologica è rappresentata dalla iperplasia multighiandolare paratiroidea ma, specie in caso di diagnosi tardiva, sono stati identificati casi di iperplasia multipla associata ad adenoma (IPTH terziario) (67).

2) Tumori pancreatici insulari

Presentano una incidenza complessiva dell'80% tra i portatori della MEN1. Tumori multicentrici insulari possono produrre sindromi ormonocorrelate e dare luogo ad una trasformazione maligna con metastatizzazione a distanza. Nonostante i quadri sindromici possano essere correlati ad un dato prodotto di secrezione, molte neoplasie presentano un quadro di iperplasia di multipli tipi cellulari e producono diversi ormoni, peptidi o amine (68).

GASTRINOMA

La sindrome di Zollinger-Ellison (ZES, ipersecrezione acida gastrica causata da iperproduzione di gastrina) è la maggior causa di morbidità e mortalità nella MEN1. Una condizione di iper-gastrinemia appare rilevabile in circa il 60% dei pazienti affetti da MEN1 con tumore pancreatico.

La ZES include i seguenti segni clinici: ipersecrezione acida gastrica, ulcere peptiche singole o multiple, diarrea, esofagite ed elevati livelli sierici di gastrina, rilevati con metodo RIA (usualmente > 300 pg/mL).

La conferma dello stato ipergastrinemico può essere ottenuta mediante test di stimolazione, attraverso l'infusione di calcio-gluconato o l'iniezione di secretina: l'innalzamento di gastrina è massimale (> 200 pg/mL) nel gastrinoma mentre l'ampiezza dell'incremento dopo stimolazione non supera i 50 pg/mL nelle altre condizioni patologiche che possono sostenere una ipergastrinemia secondaria.

INSULINOMA

Rappresenta la seconda neoplasia pancreatica (35% dei tumori pancreatici in corso di MEN1: le manifestazioni cliniche non differiscono da quelle legate alla forma sporadica della neoplasia ma l'insulinoma MEN1-associato risulta frequentemente policentrico ed anche nel caso di identificazione di una sola lesione adenomatosa è altamente probabile la presenza di iperplasia o micro-adenomatosi delle cellule insulino-secridenti.

GLUCAGONOMA

Nonostante il glucagone plasmatico risulti elevato in oltre il 50% dei pazienti affetti da MEN1 e che in più del 30% dei pazienti si rilevi un elevato numero di cellule insulari glucagone-immunopositive, il glucagonoma non è frequente in corso di MEN1. Nei casi in cui si presenti, la manifestazione tipica è rappresentata dall'iperglicemia mentre solo pochi casi presentano lesioni cutanee (rash, eritema necrotizzante migratorio) o sintomi a carattere generale (anemia, anoressia, trombosi venosa profonda).

SINDROME DIARROICA (Sindrome di Verner-Morrison)

Sindrome caratterizzata da: diarrea acquosa, ipokaliemia, ipocloridria ed acidosi, può essere associata sia a tumori neuroendocrini pancreatici che a tumori carcinoidi.

3) Tumori adenoipofisari

Tumori ipofisari sono presenti in oltre il 50% dei pazienti MEN1. Solitamente multicentrici, possono causare, in relazione al prodotto di secrezione della neoplasia, galattorrea, amenorrea, acromegalia o malattia di Cushing. Esistono 2 distinti meccanismi coinvolti nella trasformazione neoplastica ipofisaria: il primo riguarda principalmente l'espansione clonale di uno specifico tipo cellulare ipofisario ed è fondato su fattori genetici (es. mutazione della sub-unità delle proteine G).

Il secondo concerne la stimolazione ipofisaria da parte di releasing-hormones (RHs) ipotalamici: i due meccanismi possono evidentemente auto-condizionarsi ed agire sinergicamente.

Più frequentemente, in corso di MEN1, si manifestano prolattinomi (PRL-omi) che, generalmente, determinano concentrazioni sieriche estremamente elevate di PRL (>200 µg/L). Valori meno elevati possono essere dovuti anche a fenomeni di compressione del peduncolo ipofisario.

L'acromegalia, dovuta ad eccessiva produzione di hGH, è, per frequenza, la seconda manifestazione ipofisaria della MEN1: in rari casi la sindrome acromegalica può essere dovuta ad iperproduzione ectopica di GH-RH da parte di tumori pancreatici insulari.

L'iperproduzione adenoipofisaria di ACTH può determinare le manifestazioni della malattia di Cushing e dev'essere differenziata dalla, possibile, produzione ectopica di ACTH e/o CRH da parte di neoplasie pancreatiche (69).

Neoplasia endocrina multipla di tipo 2 (MEN-2)

I due principali quadri clinici sono caratterizzati dalla coesistenza del carcinoma midollare tiroideo (CMT) e del feocromocitoma e sono classificati in due principali sottotipi:

MEN 2A

- CARCINOMA MIDOLLARE TIROIDEO
- FEOCROMOCITOMA
- IPERPARATIROIDISMO

La MEN 2A può presentarsi con 3 modalità varianti:

1. Carcinoma midollare tiroideo familiare (CMTF)
2. MEN 2A con lichen amiloidotico cutaneo
3. MEN 2A con malattia di Hirschsprung

MEN 2B

- CARCINOMA MIDOLLARE TIROIDEO
- FEOCROMOCITOMA
- NEUROMI MUCOSI
- GANGLIONEUROMATOSI INTESTINALE
- DEFICIT DI SVILUPPO ED HABITUS MARFANOIDE

Genetica e fisiopatologia

Mutazioni del proto-oncogene c-RET sono identificabili nel 93-95% dei pazienti affetti da MEN 2. Il proto-oncogene c-RET è situato in regione q11.2 del cromosoma 10 e codifica il recettore RET per il fattore neurotrofico derivato dalle cellule gliali (GDNF). Tale recettore presenta, in caso di MEN 2, due principali mutazioni attivanti a carico di domini funzionali. La prima mutazione, rilevabile in corso di MEN 2A, riguarda un dominio recettoriale extra-cellulare, ricco in residui cisteinici (Cys-Rich domain). La seconda mutazione, rilevata in corso di MEN 2B, interessa il dominio intra-cellulare di trans-attivazione (tirosin-kinasi).

Sono infine identificabili mutazioni a carico di codoni diversi in singole cellule C para-follicolari in casi di CMT sporadico (mutazioni somatiche) (70).

Screening della MEN 2

La tiroidectomia totale precoce può prevenire la mortalità e la morbilità da CMT: l'identificazione delle mutazioni del proto-oncogene c-RET mediante tecniche di biologia molecolare ha profondamente modificato e semplificato le procedure di screening.

Nella MEN 2A l'analisi genetica viene effettuata in prima istanza sul portatore e successivamente, dopo identificazione delle mutazioni, estesa ai membri della famiglia. L'indagine deve essere eseguita due volte, in due laboratori diversi e su due campioni diversi: il rilievo di un doppio risultato negativo esclude il soggetto da ulteriori valutazioni. I soggetti positivi allo screening genetico possono essere "gestiti" secondo due diverse procedure:

- a) tiroidectomia totale preventiva prima dei 6 anni di età
- b) esecuzione annuale del dosaggio della calcitonina basale e dopo test di stimolazione con calcio gluconato-pentagastrina ed invio alla tiroidectomia totale in caso di anomale risposte al test di stimolazione.

Nel caso della MEN 2B il test genetico può essere eseguito nei soggetti con fenotipo patologico non completamente espresso (i neuromi mucosi, ad esempio, possono risultare poco evidenti o essere difficilmente identificabili).

In caso di famiglie con provata trasmissione genetica del CMT ma senza mutazioni identificabili del proto-oncogene c-RET, dovrà essere eseguito annualmente il test di stimolazione con calcio gluconato-pentagastrina (71).

Lo screening del feocromocitoma in pazienti portatori di mutazione del c-RET prevede la misurazione annuale dell'acido vanilmandelico urinario (VMA) e delle catecolamine plasmatiche ed urinarie. Recentemente è stato proposto anche l'impiego del marcatore circolante Cromogranina-A (Cg-A) per l'identificazione del feocromocitoma.

Nei casi positivi e/o con sintomatologia suggestiva per feocromocitoma dovranno essere eseguite adeguate indagini di imaging morfo-strutturale (TC spirale) e funzionale (scintigrafia whole body e SPET con [^{123/131}Iodio]-Meta-Iodo-Benzil-Guanidina-MIBG) (72).

Infine, la valutazione della calcemia (o preferibilmente del calcio ionizzato) ed il dosaggio del Paratormone (PTH) a cadenza bi- o triennale consentiranno un adeguato screening dell'iperparatiroidismo. In caso di preferenziale o importante espressione dell'iperparatiroidismo nella famiglia oggetto dello screening, l'intervallo fra i controlli verrà opportunamente abbreviato (controllo annuale).

Strategia diagnostica dei tumori neuroendocrini

Le strategie clinico-diagnostiche sono estremamente variabili in relazione alla tipologia, alla localizzazione anatomica ed alla differenziazione funzionale delle neoplasie neuroendocrine.

Le principali indagini diagnostiche possono essere articolate schematicamente in indagini di laboratorio (diagnostica “*in vitro*”) ed indagini “*in vivo*”: fra queste ultime rivestono un ruolo preminente le tecniche di imaging morfologico e funzionale oltre alle tecniche endoscopiche (endoscopia digestiva, broncoscopia...). Molto spesso, tuttavia, non è possibile giungere ad una diagnosi definitiva senza un complesso studio istopatologico, immunoistochimico ed ultrastrutturale.

Diagnostica “*in vitro*”

• Caratterizzazione dei prodotti di secrezione nei tumori neuroendocrini funzionanti (BANTs)

La caratterizzazione dei prodotti di secrezione dei BANTs viene effettuata mediante indagini biochimiche ed immunochimiche: in particolare, vengono impiegati metodi biochimici per la determinazione dell'acido vanilmandelico, delle catecolamine urinarie e/o plasmatiche e dell'acido 5-idrossi-indol-acetico (5-HIAA) urinario. Come evidenziato in precedenza, tali indagini vengono effettuate routinariamente nel sospetto di feocromocitoma (VMA e catecolamine) e, rispettivamente, di tumore carcinoide (5-HIAA).

Tali determinazioni richiedono particolare accuratezza sia in fase pre-analitica (raccolta urinaria nelle 24 ore, dieta con esclusione di alimenti interferenti, wash out farmacologico...) che in fase analitica, con impiego di tecniche adeguate (es. HPLC).

Le indagini immunochimiche sono principalmente rivolte alla identificazione di peptidi ed ormoni ed il “gold standard” metodologico in neuroendocrinologia è rappresentato dalle tecniche immunochimiche con radioisotopi (RIA, IRMA, dosaggio radio-recettoriale).

Altre molecole ormonali vengono utilizzate in casi selezionati, ad esempio nello studio delle sindromi paraneoplastiche o di neoplasie secernenti (Calcitonina, ACTH, CRH ...).

La richiesta di indagini volte alla caratterizzazione della attività biologica di una neoplasia neuroendocrina viene indirizzata dal sospetto clinico di sindrome correlata alla secrezione di molecole bio-attive: il riscontro di ele-

vate concentrazioni di sostanze bioattive e/o di loro cataboliti conferma il sospetto clinico e giustifica il ricorso a tecniche di visualizzazione e localizzazione della neoplasia.

- Secrezione pulsatile delle molecole bioattive
- Overlap tra concentrazioni normali e patologiche del marcatore utilizzato
- Potenziali cause di errore metodologico pre-analitico
- Potenziali cause di errore analitico
- Potenziale perdita di immunoreattività da parte di prodotti secretivi mutati

Tabella 18. Potenziali cause di falso negativo delle indagini in vitro.

Viceversa, un dato laboratoristico negativo non assume “di per sè”, un significato assoluto poichè devono essere considerati molti fattori di potenziale “mascheramento”, sintetizzati nella Tabella 18.

Pertanto la negatività della determinazione biologica, specie se singola, non consente il rule-out dell’ipotesi diagnostica: inoltre dev’essere considerato che molte neoplasie neuroendocrine non presentano attività secretiva ovvero producono molecole la cui attività biologica non è caratterizzata o non determina sindromi cliniche riconosciute.

Per tale motivo la ricerca si è indirizzata verso lo studio di marcatori neuroendocrini “trasversali” e, possibilmente, indipendenti dalla attività biologica del NET.

• **Marcatori neuroendocrini circolanti**

Enolasi Neurone Specifica (NSE)

Una molecola largamente utilizzata in questo senso è rappresentata dall’enolasi neurone-specifica (NSE), enzima glicolitico citoplasmatico: in particolare è consolidato il suo utilizzo clinico come marcatore tumorale nella valutazione del microcitoma polmonare (SCLC) e del neuroblastoma (73, 74).

Viceversa l’impiego dell’NSE circolante nei tumori neuroendocrini del tratto gastro-entero-pancreatico e bronchiale non presenta una accuratezza diagnostica particolarmente elevata (75, 76).

Il riscontro di elevati livelli di NSE circolante potrebbe tuttavia essere indicativo di una maggiore aggressività delle neoplasie neuroendocrine (77, 78).

Cromogranina-A

Le cromogranine sono ampiamente utilizzate in immunistochemica come marcatori di tessuti a derivazione neuroendocrina ed impiegate per la diagnosi di neoplasie derivate dal tessuto neuroendocrino (81).

La disponibilità di un anticorpo monoclonale diretto contro la Cg-A (LK2H10) ne consente un ampio impiego nella attività diagnostica immunoistochimica ed il suo utilizzo riveste particolare interesse specialmente nel caso di tumori neuroendocrini che perdono la capacità di produrre o secerne sostanze ormonali o che producono peptidi senza apparente attività biologica e conseguenti sindromi cliniche: anche in tali neoplasie, infatti, la Cg-A risulta una componente essenziale della matrice dei granuli densi (82).

Infine deve essere sottolineato come immunoreattività per la Cg-A, generalmente modesta dal punto di vista quantitativo, sia dimostrabile anche in neoplasie di origine non-neuroendocrina: tale aspetto sottende il possibile utilizzo del marcatore anche in questo tipo di neoplasie. Nella Tabella 19 sono riassunti gli ambiti patologici nei quali l'impiego della cromogranina-A come marcatore tissutale risulta clinicamente rilevante.

Adenomi ipofisari funzionanti

Adenoma ACTH-secerne
Adenoma FSH/LH-secerne
Adenoma hGH-secerne (acromegalia)
Adenoma TSH-secerne

Adenomi ipofisari non secernenti

Null-cell adenoma

Tumori neuroendocrini dell'area GEP

[secernenti (BANT) e non-secernenti (BINT)]

Carcinoide
Gastrinoma
Glucagonoma
Insulinoma
Somatostatina
VIPoma

Tumori neuroendocrini broncopolmonari

Carcinoide bronchiale
Microcitoma polmonare (SCLC)
Carcinoma neuroendocrino polmonare a grandi cellule

Carcinoma midollare della tiroide

Feocromocitoma

Paraganglioma

Tumori neurali

Tumore a cellule di Merkel

Tabella 19. Applicazioni della Cg-A in diagnostica immunoistochimica.

Poichè le cromogranine sono idro-solubili e in ragione dei fenomeni di co-secrezione delle granine con i peptidi e gli ormoni prodotti dalle cellule neuroendocrine, è possibile il loro impiego come marcatori circolanti. La cromogranina-A risulta maggiormente rappresentata (anche se è possibile l'espressione delle altre granine in tessuti cromogranina-A negativi) ed il suo impiego in clinica è maggiormente diffuso (83). La maggior parte degli Autori ha evidenziato come la Cg-A rappresenti il più accurato pan-marcatore di neoplasia neuroendocrina attualmente disponibile (84, 85, 86, 87, 88).

In particolare la Cg-A assume un significato fondamentale nella caratterizzazione biumorale della neoplasia qualora non sia presente attività biologica e clinica della stessa (es. neoplasie neuroendocrine non-funzionanti) ovvero quando l'utilizzo di marcatori biochimici specifici per l'attività biologica della neoplasia presenti difficoltà metodologiche o procedurali (es. accurata raccolta delle urine nelle 24 ore per la determinazione del 5-HIAA nei pazienti affetti da tumore carcinoidale e delle catecolamine e del VMA nei pazienti affetti da feocromocitoma) (89, 90, 91).

In particolare la Cg-A dimostra una sensibilità ed una specificità paragonabile a quella delle catecolamine e/o dei loro cataboliti urinari nella diagnosi di feocromocitoma mentre la sua concentrazione non viene sensibilmente modificata dalla assunzione di farmaci correntemente impiegati nella diagnosi e nella terapia di tale patologia (clonidina, fentolamina, tiramina...) (92).

Studi relativi all'impiego della Cg-A nella diagnosi differenziale dell'ipertensione arteriosa da feocromocitoma rispetto alle altre cause di ipertensione non hanno dimostrato un significativo incremento del marcatore in pazienti affetti da ipertensione arteriosa essenziale o da forme secondarie non correlate a feocromocitoma (93).

Un altro interessante campo applicativo è rappresentato dalla sindrome di Cushing, caratterizzata clinicamente da sintomi e segni da iperproduzione di cortisolo. Il rilievo di elevate concentrazioni di Cg-A circolante può essere di aiuto nella identificazione di forme ectopiche di secrezione di ACTH o CRH, generalmente correlate a neoplasie neuroendocrine quali il carcinoidale, il carcinoma midollare tiroideo o il carcinoma polmonare a piccole cellule (SCLC, microcitoma) (94).

Un potenziale problema legato alla determinazione della Cg-A circolante può essere la sua produzione da parte di tessuti neuroendocrini diversi. Questo determina, rispetto a molecole caratterizzate da una produzione tessuto-specifica (es. ormoni peptidici) un pool circolante maggiore e, conseguentemente, una maggiore difficoltà nel modificare acutamente la concentrazione della molecola rispetto al "background" presente.

Lievi incrementi della Cg-A circolante si verificano in età post-menopausale, probabilmente in relazione all'aumento della secrezione gonadotropinica mentre concentrazioni sieriche elevate possono essere riscontrate in pazienti affetti da insufficienza renale ed epatocellulare (95).

Numerosi studi hanno chiarito come i livelli di Cg-A circolante siano elevati in diverse neoplasie neuroendocrine funzionanti e non, ed hanno rilevato una correlazione diretta tra la massa tumorale e la concentrazione sierica del marcatore (96, 97). In effetti, esistono dimostrazioni della modesta sensibilità della Cg-A circolante in neoplasie neuroendocrine di piccole dimensioni (es. insulinomi, microadenomi ipofisari) e, in particolare se queste neoplasie risultano biologicamente funzionanti, la sintomatologia correlata può portare alla loro identificazione quando le dimensioni della lesioni sono così piccole da non consentire una produzione di Cg-A superiore al livello fisiologico all'equilibrio.

Altre esperienze, tuttavia, hanno dimostrato elevati livelli di Cg-A anche in neoplasie di dimensioni ridotte (carcinoide, gastrinoma) (98, 99).

Considerando le caratteristiche immunoistochimiche ed ultrastrutturali dei tessuti neuroendocrini neoplastici è stata dimostrata la correlazione fra densità dei granuli secretori nel tessuto tumorale e l'espressione tissutale e sierica di Cg-A: tale considerazione biologica dev'essere integrata al concetto classico di marcatore di massa tumorale e rende ragione della esistenza di casi di neoplasia neuroendocrina estesa con bassi livelli di Cg-A circolante.

Infatti neoplasie con una scarsa rappresentazione granulare, indipendentemente dalle dimensioni, possono essere caratterizzate da bassi livelli sierici di Cg-A e, pertanto, l'espressione di Cg-A circolante può essere considerata come funzione complessa della densità granulare, della massa tumorale complessiva e della conservazione della capacità di secrezione cellulare della componente granulare (100, 101, 102).

Queste considerazioni determinano, a nostro avviso, un atteggiamento di cautela nell'interpretazione del dato relativo alla Cg-A come indicatore dell'estensione di malattia che, in fase di staging iniziale, deve essere integrato dalle opportune indagini di diagnostica per immagini tra cui, in particolare, la scintigrafia con ¹¹¹In-pentetreotide e la tomografia computerizzata.

Importante appare invece l'utilizzo del marcatore nel follow up post-chirurgico e nel monitoraggio della risposta alla terapia medica (somatostatina ed analoghi, chemioterapia).

Diagnostica “*in vivo*”

Radiologia

Le tecniche di diagnostica per immagini a carattere morfologico (radiologia convenzionale, tomografia computerizzata a raggi X, risonanza magnetica) rivestono un ruolo importante nella identificazione e nello studio della topografia e dei rapporti che i tumori neuroendocrini contraggono con gli organi e le strutture circostanti. L'accuratezza di tali indagini viene, tuttavia, ridimensionata dalle caratteristiche intrinseche di questi tumori (lesioni

di piccole dimensioni, spesso indovate in organi di per sè difficili da studiare come il pancreas o le pareti duodenali). Pertanto è opinione comune che, in presenza di segni clinici e biumorali dimostrativi di neoplasia neuroendocrina, la negatività di indagini strumentali morfologiche non consenta il rule-out della neoplasia.

Medicina Nucleare

Le tecniche medico nucleari “*in vivo*” utilizzano molecole a tropismo elettivo per il tessuto neuroendocrino (substrati metabolici, ligandi recettoriali) marcati con isotopi radioattivi che le rendono identificabili e localizzabili.

I principali radiofarmaci utilizzati per lo studio dei NET sono schematizzati nella Tabella 20.

I principali vantaggi delle tecniche medico nucleari risiedono nella possibilità di studiare fenomeni metabolici cellulari specifici “*in vivo* e” nella relativa indipendenza dalle dimensioni delle lesioni: infatti l’impiego di indicatori “positivi” rende possibile l’identificazione di lesioni molto piccole (anche di dimensioni inferiori ai limiti teorici di risoluzione) ma attivamente fissanti l’indicatore. Inoltre tutte le indagini consentono l’imaging del corpo intero (whole body scan) e consentono pertanto un valido contributo alla stadiazione della neoplasia.

^{99m}Tc-DMSA pentavalente

Iodio-131/ Iodio-123 - Metaiodobenzilguanidina (MIBG)

Analoghi radiomarcanti della somatostatina

- Iodio-123-Tyr3-octreotide
- **Iodio-111-pentetreotide**

Anticorpi monoclonali radiomarcanti

MoAb-anti CEA radiomarcanti (complementari ad altri radiofarmaci nello studio del CMT)

Iodio-123-peptide vasoattivo intestinale (VIP)

Traccianti emittenti positroni (Tomografia ad emissione di positroni-PET)

¹⁸F-Fluorodesossiglucosio (FDG)

Impiego sperimentale:

¹⁸F-Fluoroiodobenzilguanidina

¹¹C-idrossiefedrina

¹¹C-L-Dopa

¹¹C-idrossitriptofano

Tabella 20. Radiofarmaci utilizzati nello studio delle neoplasie neuroendocrine.

Scintigrafia recettoriale con ^{111}In -octreotide (pentetreotide)

La scintigrafia recettoriale con ^{111}In -octreotide è una metodica che possiede una elevata sensibilità nel riconoscimento di lesioni sia primitive che metastatiche le cui cellule esprimano recettori per la somatostatina. Tali recettori sono fisiologicamente presenti nella grande maggioranza delle cellule neuroendocrine normali, sulle quali la somatostatina svolge un'azione modulante la secrezione, la proliferazione e la neurotrasmissione. In particolare, i tumori neuroendocrini presentano generalmente una elevata densità recettoriale che ne permette la visualizzazione scintigrafica attraverso l'uso di analoghi radiomarcanti della somatostatina (103).

RADIOFARMACI

La somatostatina (SS) è un ormone proteico di 14 aminoacidi: l'utilizzo di questa molecola nella preparazione di farmaci e radiofarmaci è sostanzialmente impossibile a causa del suo tempo di emivita molto breve. Infatti, in seguito a processi di degradazione enzimatica, questo non supera i 3 minuti. L'octreotide, molecola peptidica di sintesi formata da 8 aminoacidi, è l'analogo della somatostatina maggiormente utilizzato in clinica in quanto presenta una buona resistenza ai processi di degradazione enzimatica mantenendo la stessa attività biologica specifica (104).

Il primo tracciante usato per la visualizzazione "in vivo" dei recettori della somatostatina è stato lo ^{123}I -Tyr-octreotide. Alcuni inconvenienti ne hanno tuttavia limitato l'utilizzo nella pratica clinica. Fra questi, in particolare, difficoltà tecniche di marcatura, elevato costo e difficile reperibilità dello ^{123}I ad elevata attività specifica. Inoltre l'eccessivo accumulo del radiofarmaco nell'intestino, a causa della sua clearance epatobiliare, rende di difficile interpretazione le immagini scintigrafiche dell'addome superiore (105). Parte di questi problemi sono stati risolti con l'utilizzo dell'octreotide legato ad acido dietilen-tetramino-pentacetico marcato con ^{111}In : oggi l' ^{111}In -DTPA-octreotide è il radiofarmaco più utilizzato nella diagnosi, stadiazione e follow up dei tumori neuroendocrini (106, 107). Dopo somministrazione endovenosa l' ^{111}In -DTPA-octreotide viene eliminato per via renale con una clearance sensibilmente più bassa di quella dell' ^{123}I -Tyr-octreotide a livello epatobiliare: questo, associato ad un'emivita più lunga dell' ^{111}In ($T_{1/2} = 67$ ore) rispetto a quello dello ^{123}I ($T_{1/2} = 13,2$ ore) determina una permanenza più lunga del radiofarmaco nei tessuti esprimanti i recettori somatostatinerfici. L'impiego di ^{111}In -DTPA-octreotide comporta, inoltre, la presenza di minore radioattività, a 24 ore dall'iniezione, nei tessuti poveri di recettori per la somatostatina.

Lo ^{123}I -Tyr-octreotide comporta una certa radioattività “di fondo” nelle immagini (background) dovuta ad elevati livelli circolanti di prodotti di degradazione del radiofarmaco.

La clearance epatobiliare ridotta dell' ^{111}In -DTPA-octreotide ne favorisce l'uso nella SPECT dell'addome che, ad esempio, trova particolare indicazione nella localizzazione di piccoli tumori neuroendocrini del pancreas

Lo studio della biodistribuzione del ^{111}In -DTPA-octreotide dimostra accumulo del radiofarmaco, dopo iniezione per via endovenosa, a livello dell'ipofisi, della tiroide, del fegato, della milza, dei reni e della vescica. La permanenza del radiofarmaco che si verifica a livello renale suggerisce che, dopo essere stato filtrato a livello glomerulare, esso venga, almeno parzialmente, riassorbito a livello dei tubuli renali.

Occasionalmente si ottengono immagini della colecisti che vanno valutate con attenzione in quanto possono mimare lesioni epatiche: in questi casi risulta utile somministrare al paziente un pasto “grasso” o sostanze ad attività colecistocinetica per stimolare lo svuotamento della colecisti e quindi acquisire nuove immagini.

In relazione alla possibile presenza di radioattività intestinale, soprattutto in corrispondenza del colon, a 24 h dalla somministrazione molti Autori ritengono opportuna una dieta povera di fibre nei 3 giorni precedenti l'esame scintigrafico ed una adeguata preparazione intestinale mediante lassativi.

Poichè anche i linfociti “attivati” ed i tessuti granulomatosi esprimono recettori per la somatostatina, i tessuti sede di processi infiammatori e/o granulomatosi e le ferite chirurgiche recenti devono essere valutati con molta attenzione.

Il meccanismo di visualizzazione della tiroide negli esami scintigrafici mediante impiego di analoghi della somatostatina non è ancora ben chiaro: studi mirati ad accertare la presenza o meno dei recettori nella ghiandola normale hanno fornito dati discordanti mentre è stato ben documentato come alcuni tumori maligni della tiroide siano positivi per i recettori della somatostatina (109). Una ipotesi interpretativa chiama in causa la possibile espressione di recettori somatostatinerfici da parte dei linfociti presenti a livello intra-tiroideo in corso di tireopatie autoimmuni ma è stata evidenziata visualizzazione scintigrafica della tiroide in corso di patologia nodulare benigna non-autoimmune ed anche in caso di tiroide normale.

L'analisi dello stato chimico della radioattività plasmatica ed urinaria nelle prime 4 ore dall'iniezione, ha dimostrato una minima degradazione dell' ^{111}In -DTPA-octreotide: tali fenomeni, infatti, incominciano a verificarsi dopo 4 ore, quando la radioattività circolante ammonta a meno del 10% di quella somministrata.

La dose equivalente effettiva dell' ^{111}In -DTPA-octreotide, sebbene più alta di quella dell' ^{123}I -Tyr-octreotide, è paragonabile a quella di altri radio-

farmaci marcati con ^{111}In e risulta accettabile in relazione alle indicazioni cliniche di questo radiofarmaco (110).

Per ottenere un esame soddisfacente devono essere somministrati 185 MBq di ^{111}In -DTPA-octreotide per via endovenosa. Le immagini sono ottenute tramite collimatori per medie energie (173 e 247 KeV). E' possibile ottenere buoni risultati anche usando collimatori per basse energie e ad alta risoluzione acquisendo solo il fotopicco a 173-KeV. Dopo 4, 24 e 48 ore dalla somministrazione del radiofarmaco devono essere rilevate immagini whole body ad elevato conteggio: nel caso in cui si rilevino lesioni di piccole dimensioni, accumuli di dubbio significato o mal localizzabili, è d'obbligo rilevare immagini SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) ad elevata definizione.

RECETTORI

I recettori per la somatostatina (SS-R) sono glicoproteine integrali di membrana accoppiate al sistema delle G-proteins: la loro attivazione determina l'inibizione dell'adenilato ciclasi cellulare (111). Studi molecolari hanno rilevato l'esistenza di 5 sottotipi di recettori per la somatostatina: tali recettori sono stati clonati e definiti, cronologicamente, SS-R₁, SS-R₂, SS-R₃, SS-R₄, SS-R₅. Nell'ambito dei SS-R₂ sono state identificate due varianti: SS-R_{2A} e SS-R_{2B} (112).

Organo	mGy/111MBq	rads/3mCi	mGy/222MBq	rads/6mCi
Reni	54,16	5,42	108,32	10,83
Fegato	12,15	1,22	24,31	2,43
Milza	73,86	7,39	147,73	14,77
Utero	6,34	0,63	12,67	1,27
Ovaie	4,89	0,49	9,79	0,98
Testicoli	2,9	0,29	5,8	0,58
Midollo osseo	3,46	0,35	6,91	0,69
Vescica	30,24	3,02	60,48	6,05
Stomaco	5,67	0,57	11,43	1,13
Piccolo Intestino	4,78	0,48	9,56	0,96
Grosso Intestino	7,73	0,77	15,46	1,55
Surreni	7,55	0,76	15,11	1,51
Tiroide	7,43	0,74	14,86	1,49
	mSV/111MBq	rem/3mCi	mSv/222MBq	rem/6mCi
Dose-equivalente Effettiva	13,03	1,3	26,06	2,61

Tabella 21: dose assorbita stimata e dose-equivalente effettiva da ^{111}In -DTPA-Octreotide.

Studi farmacologici hanno dimostrato che i SS-R_{2A}, SS-R_{2B}, SS-R₃ e SS-R₅ presentano una elevata affinità per l'octreotide e per l'MK678 (un altro agonista di sintesi della somatostatina) che, al contrario, vengono legati con bassa affinità dai SS-R₁ e SS-R₄.

La stessa suddivisione dei recettori è stata ottenuta con l'analisi strutturale, la quale ha dimostrato una marcata similarità di sequenza, superiore all'80%, all'interno di ognuno dei due gruppi. Contrariamente l'omologia strutturale fra recettori appartenenti a gruppi diversi non supera il 60% (113).

E' possibile inoltre distinguere i recettori per la somatostatina in base al destino del complesso recettore-ligando: i SS-R₂ e i SS-R₅ si legano con grande affinità all'octreotide ed il complesso recettore-ligando viene trasportato all'interno della cellula tramite invaginazione della membrana plasmatica. Le vescicole intracellulari che si formano, dette endosomi, vanno incontro a un processo di acidificazione che comporta la dissociazione del complesso recettore-ligando. Successivamente il ligando viene attaccato da enzimi lisosomiali e distrutto mentre il recettore ritorna alla membrana cellulare integro. L'intero processo dura circa 15 minuti e permette a ogni singolo recettore di interagire più volte con diverse molecole di ligando (114): anche l'¹¹¹In-DTPA-octreotide, legandosi ai SS-R₂ e SS-R₅, subisce questo processo metabolico.

Nelle cellule che esprimono i SS-R₁, invece, il complesso recettore-ligando non viene internalizzato: il significato biologico di questa differenza non è ancora chiaro ma potrebbe essere legato a fenomeni di sensibilizzazione e desensibilizzazione dei recettori (115).

I recettori per la somatostatina sembrano essere espressi con un certo grado di specificità tissutale: infatti i SS-R₁₋₄ sono variabilmente espressi nelle linee cellulari tumorali derivanti dal sistema nervoso centrale, colon, fegato, pancreas e polmone e, fra questi, i recettori i SS-R₂ sono maggiormente rappresentati. I SS-R₅ invece sono espressi con maggiore frequenza da cellule tumorali dell'ipofisi anteriore, del muscolo liscio e del tratto gastro-intestinale e recentemente la loro espressione è stata dimostrata anche in alcuni tumori della tiroide (116, 117, 118, 119).

APPLICAZIONI CLINICHE

Tumori GEP

Studi recentemente riportati in letteratura dimostrano che, nel caso dei tumori neuroendocrini GEP, la scintigrafia con ¹¹¹In-DTPA-octreotide ha una sensibilità superiore al 90% per le lesioni secondarie e intorno all'80% per i tumori primitivi. Una sensibilità inferiore viene riferita solo nel caso di pazienti affetti da insulinoma, a causa della relativa bassa densità di SS-R₂ in questi tumori.

Gli studi pubblicati inizialmente sulla scintigrafia recettoriale con analoghi della somatostatina dimostravano una sensibilità inferiore nell'individuazione di metastasi epatiche da NET-GEP: tali risultati devono essere riletti ed analizzati in relazione al fatto che in tali esperienze non era stata utilizzata la tecnica SPECT a complemento dello studio planare standard. Pubblicazioni più recenti dimostrano infatti che la tecnica tomografica SPECT permette di visualizzare più lesioni rispetto alle tecniche planari, particolarmente in ambito epatico (120, 121, 122).

Le principali indicazioni di questo esame nello studio dei NET GEP sono:

- la localizzazione di tumori primitivi sconosciuti in pazienti con metastasi note, di natura neuroendocrina.
- la localizzazione del tumore primitivo in pazienti sintomatici e/o con segni bioumorali di NET.
- la stadiazione pre-chirurgica in pazienti con NET noto.
- la stadiazione in pazienti con diagnosi istologica post-operatoria di NET.
- selezione dei pazienti con malattia estesa che possano beneficiare di terapia medica con analoghi della somatostatina.

Quest'ultima possibilità è attualmente ancora oggetto di studio: recentemente è stato proposto un metodo mirato a valutare la densità di SS-R "in vivo" basato sulle caratteristiche di biodistribuzione del radiofarmaco.

Il rapporto tumore/background viene calcolato su immagini SPECT transassiali ottenute a 4 e 24 ore dalla somministrazione del tracciante: se tale rapporto aumenta durante tale intervallo di tempo, il tumore, con buone probabilità, presenta una elevata densità recettoriale e viceversa.

Poiché attualmente la densità recettoriale cellulare viene ottenuta solamente "in vitro", tramite Polimerase Chain Reaction (PCR), questa nuova tecnica potrebbe rivestire notevole importanza nella selezione dei pazienti e nella scelta dell'impostazione terapeutica.

Tumori non-GEP

I dati presenti in letteratura relativamente alla scintigrafia con ¹¹¹In-DTPA-octreotide nei pazienti con tumori polmonari a piccole cellule (SCLC) indicano una sensibilità variabile dall'86% al 100% per i tumori primitivi mentre per le metastasi risulta sensibilmente più bassa, variando dal 45% al 60%. Molti studi però si basano esclusivamente su immagini planari e la sensibilità globale potrebbe essere migliorata da studi mirati con tecnica SPET. Tuttavia, considerando l'elevato costo di questa metodica e l'entità relativa dei vantaggi rispetto alle procedure diagnostiche standard, attualmente non è possibile individuare un ruolo ben definito della scintigrafia recettoriale nello studio di routine del tumore polmonare a piccole cellule (123, 124).

Anche nello studio di pazienti con feocromocitoma l'¹¹¹In-DTPA-octreotide non rappresenta il radiofarmaco di scelta poiché la sua elevata attività renale rende difficoltosa la visualizzazione della regione surrenale. In questi casi si preferisce usare la ^{123/131}I-meta-iodo-benzil-guanidina (MIBG). I dati presenti in letteratura riportano una sensibilità molto simile dei due traccianti, variabile dal 90% al 95%, sebbene il numero di pazienti studiati con ¹¹¹In-DTPA-octreotide sia notevolmente inferiore a quello dei pazienti studiati con ^{123/131}I-MIBG. Attualmente lo studio scintigrafico con ¹¹¹In-DTPA-octreotide viene riservato a quei casi in cui le tecniche di imaging con altri radiofarmaci e/o le tecniche radiologiche tradizionali non ottengano risultati univoci.

Nello studio dei paragangliomi la sensibilità dell'¹¹¹In-DTPA-octreotide riportata in letteratura risulta pari al 97% ed è superiore a quella di ogni altra tecnica scintigrafica o radiologica, sebbene la scintigrafia con ^{123/131}I-MIBG presenti una maggiore specificità (125, 126).

Per quanto riguarda lo studio scintigrafico di pazienti con carcinoma midollare della tiroide, la sensibilità dell'¹¹¹In-DTPA-octreotide riportata in letteratura varia dal 47% al 68%. Studi "in vitro" hanno dimostrato che solo il 30% dei carcinomi midollari della tiroide presentano SS-R: questo esame viene principalmente usato nel follow up postoperatorio nel caso in cui si abbia un innalzamento dei livelli ematici di CEA e calcitonina. Una limitazione importante è però rappresentata dalla scarsa capacità di individuare lesioni tiroidee di dimensioni inferiori ai 10 mm, spesso responsabili di elevati livelli di markers tumorali.

A scopo esemplificativo verrà riportata una esperienza condotta presso il nostro Centro su una casistica selezionata di NET dell'area GEP per confrontare la performance diagnostica della scintigrafia recettoriale e delle tecniche morfologiche (ecografia e TC addominale).

Casistica clinica

Sono stati selezionati 17 pazienti di cui 12 affetti da tumore neuroendocrino primario e 5 affetti da tumore neuroendocrino precedentemente trattato e con ripresa di malattia. La malattia è stata diagnosticata istologicamente su tessuto bioptico o dopo resezione chirurgica. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a scintigrafia recettoriale con ¹¹¹In-pentetreotide.

Nelle Tabelle 22 e 23 sono riassunte le caratteristiche cliniche principali ed i sottogruppi relativi al distretto anatomico interessato e all'istotipo tumorale.

ETÀ MEDIA	53.96 anni
RANGE ETÀ	28- 72 anni
n° pazienti maschi	8
n° pazienti femmine	9
Pazienti con tumore primario	12
Pazienti con ripresa di malattia	5

Tabella 22. Dati clinici principali dei pazienti selezionati.

Sedi anatomiche	N° pazienti	Classificazione
Stomaco	1	1 Carcinoide [BINT]
Duodeno	2	1 Somatostatina [BANT] 1 NONF
Ileo	4	2 Carcinoidi [BINT] 2 Carcinoidi [BANT]
Appendice	1	1 Carcinoide [BANT]
Retto	1	1 Carcinoide [BINT]
Pancreas	8	1 Gastrinoma [BINT] 2 Gastrinoma [BANT] 1 Somatostatina [BINT] 1 Insulinoma [BANT] 1 Insulinoma [BINT] 1 PP-oma [BINT] 1 Glucagonoma [BINT]

Tabella 23. Dati anatomopatologici dei pazienti selezionati.

Stadiazione della neoplasia

La neoplasia è stata definita limitata o diffusa sulla base di:

- Stadiazione chirurgica e patologica nei pazienti sottoposti ad intervento chirurgico
- Valutazione strumentale mediante TC ed Ecografia addominale negli altri casi

Scintigrafia recettoriale con ¹¹¹In-pentetreotide

L'indagine scintigrafica è stata eseguita mediante iniezione endovenosa di 185 MBq di ¹¹¹In-pentetreotide (Octreoscan®), preparato secondo le modalità descritte dal Produttore (Mallinckrodt, Holland).

Le immagini sono state acquisite a 4, 24 ed eventualmente 48 ore dalla somministrazione, mediante gamma-camera a doppia testa (PICKER PRISM 2000, Picker, US), equipaggiata con collimatori per medie energie. Sono state eseguite scansioni whole body, studi planari mirati e SPECT del distretto addominale, toracico e, se clinicamente indicato, cervico-cefalico.

Protocollo di preparazione del paziente

- pulizia dell'intestino e dieta povera di scorie nei giorni precedenti l'esame
- assunzione di liquidi a intervalli regolari, da 24 ore prima dell'esame fino a 24 ore dopo l'iniezione del radiofarmaco

Protocollo di acquisizione delle immagini

L'acquisizione delle immagini è stata effettuata sui due picchi dello ¹¹¹In (173 KeV e 247 KeV) con finestra energetica del 20%. I parametri utilizzati per l'acquisizione delle immagini scintigrafiche sono stati i seguenti.

Acquisizione dopo quattro ore dall'iniezione:

- Whole body; anteriore e posteriore, 10 cm/min, matrice 256 x 1024
- SPET; step and shot: 60 proiezioni, 30 s/step, matrice 64x64 word

Acquisizione dopo ventiquattro ore dall'iniezione:

- Whole body; anteriore e posteriore, 7.5 cm/min
- SPET; step and shot: 60 proiezioni, 45 s/step, matrice 64x64 word

Elaborazione delle immagini tomografiche:

- prefiltering delle immagini acquisite con filtro Butterworth con ordine compreso fra 8 e 10 e cut-off compreso fra 0.20 e 0.30
- retroproiezione con filtro Ramp

I risultati relativi alla performance diagnostica della scintigrafia recettoriale sono riportati suddividendo i pazienti in due gruppi: il primo (GRUPPO I) comprensivo dei pazienti con NET primario ed il secondo (GRUPPO II) comprensivo dei pazienti con ripresa di malattia tumorale dopo trattamento. Infine sono riportati i dati complessivi, relativi alla somma dei casi appartenenti ai due gruppi.

GRUPPO I

I 12 pazienti affetti da NET primario presentavano una malattia limitata in 5 casi, mentre presentavano multiple localizzazioni di malattia in 7 casi.

SCINTIGRAFIA CON ¹¹¹In-pentetreotide:

PAZIENTI		POSITIVI	SENSIBILITÀ
TOTALE	12	12	100%
Pazienti con malattia limitata	5	5	100%
Pazienti con malattia estesa	7	7	100%

Nei pazienti con NET primario la scintigrafia recettoriale ha permesso di individuare complessivamente 40 lesioni di cui:

* 5 lesioni corrispondenti ai tumori primitivi nei pazienti con malattia limitata (range dimensionale 8-40 mm)

* 7 lesioni corrispondenti ai tumori primitivi nei pazienti con malattia diffusa (range dimensionale 11-80 mm)

* 28 lesioni corrispondenti a lesioni secondarie nei pazienti con malattia diffusa (range dimensionale 7-25 mm): in particolare sono state identificate 5 lesioni in sede linfonodale (range dimensionale 7-25 mm) e 23 lesioni in ambito epatico (range dimensionale 8-25 mm)

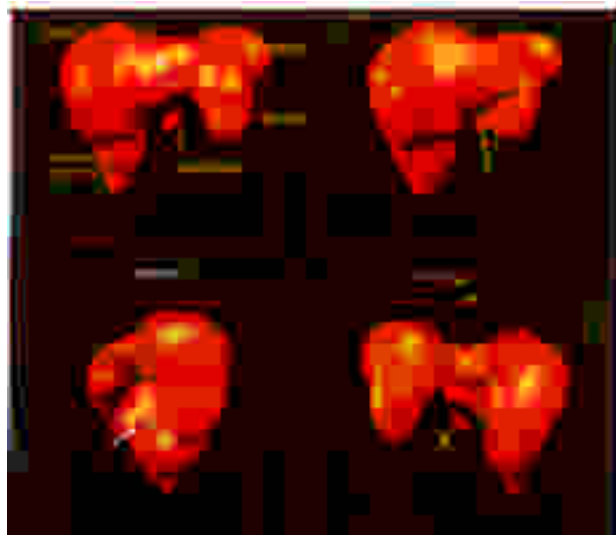


Figura 4. SPECT addominale (^{111}In -pentetreotide). Ricostruzione tridi -
mensionale: gastrinoma pancreatico.

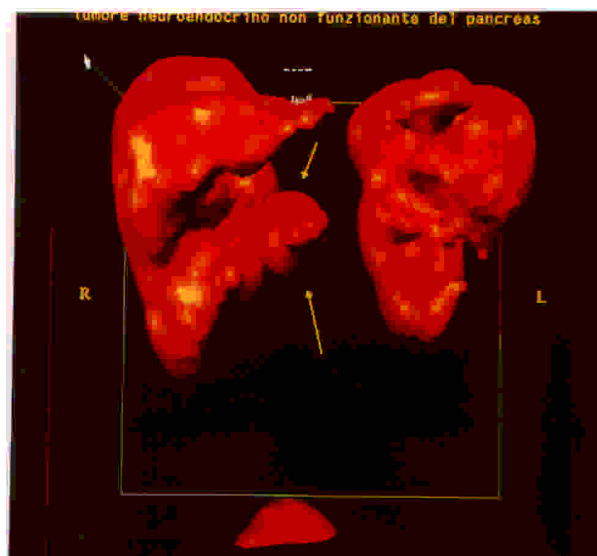


Figura 5. SPECT addominale (^{111}In -pentetreotide). Ricostruzione tridimen -
sionale: NET non-funzionante pancreatico.

Metodiche di imaging morfologico

Ecografia

L'indagine ecografica addominale è stata eseguita in 10 pazienti di cui 4 con malattia limitata alla sede primitiva e 6 con malattia metastatica: la neoplasia primitiva (range dimensionale 13-80 mm) è stata identificata all'ecografia in 6 casi di cui 4 a localizzazione pancreatica (13-80 mm), 1 ileo-mesenteriale (19 mm) ed 1 duodeno-papillare (25 mm).

In 4 pazienti la lesione primitiva non è stata identificata dall'ecografia addominale (range dimensionale 12-19 mm): in 1 caso la localizzazione era pancreatica (15 mm), in 1 caso duodenale (12 mm) ed in 2 casi ileale (12 e 19 mm).

	Tumore Primitivo	Sede	Dimensioni
Lesioni individuate	6	4 pancreas	13-80 mm
		1 ileo-mesenteriale	19 mm
		1 duodeno-papillare	25 mm
Lesioni non individuate	4	1 pancreas	15 mm
		1 duodenale	12 mm
		2 ileale	12 mm/19mm

Tabella 24. Identificazione del tumore primitivo: risultati dell'ecografia.

Complessivamente l'ecografia ha identificato 17 lesioni secondarie (range dimensionale 8-25 mm) tutte a localizzazione epatica.

Tomografia Computerizzata

L'indagine TC è stata eseguita in 11 pazienti di cui 6 con neoplasia limitata alla sede primitiva e 5 con malattia estesa.

La neoplasia primitiva (range dimensionale 10-80 mm) è stata identificata dalla TC in 8 casi: in 4 casi la localizzazione è risultata pancreatica, in 2 duodenale ed in 2 casi ileale.

La lesione primitiva non è stata identificata dalla TC (range dimensionale 15-30 mm) in 2 casi a localizzazione pancreatica ed in 1 a localizzazione ileale.

La TC ha identificato complessivamente 10 lesioni metastatiche, tutte a localizzazione epatica (range dimensionale 12-20 mm.)

GRUPPO II

I 5 pazienti affetti da NET in fase di recidiva loco-regionale limitata di malattia in 2 casi, mentre presentavano multiple localizzazioni a distanza in 3 casi.

SCINTIGRAFIA CON ¹¹¹In-pentetreotide:

	PAZIENTI	POSITIVI	SENSIBILITÀ GLOBALE
TOTALI	5	5	100%

La scintigrafia recettoriale ha identificato un'area di recidiva pelvica di carcinoide appendicolare e 4 metastasi mediastiniche di carcinoide gastrico ed ha individuato complessivamente 14 metastasi epatiche in due casi di carcinoide (1 ileale ed 1 rettale) ed in 1 caso di gastrinoma pancreatico.

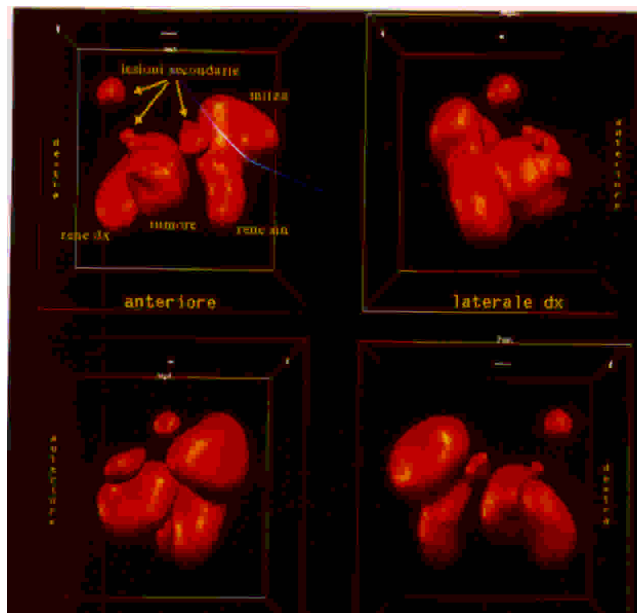


Figura 6. SPECT addominale (¹¹¹In-pentetreotide). Ricostruzione tridimensionale: voluminoso NET non-funzionante pancreatico e dimostrazione della diffusione metastatica.

Ecografia

L'indagine ecografica è stata eseguita in 2 pazienti affetti da recidiva di malattia: in 1 caso di recidiva pelvica di carcinoide appendicolare l'esame è risultato negativo. In 1 caso di carcinoide ileale l'ecografia ha identificato 3 lesioni secondarie in ambito epatico (range dimensionale 11-23 mm.)

Tomografia Computerizzata

L'indagine TC è stata eseguita in 2 pazienti: in entrambi i casi è stata dimostrata una localizzazione secondaria epatica (diametro max. 10 mm.)

PERFORMANCE DIAGNOSTICA**SCINTIGRAFIA CON ¹¹¹In-pentetreotide:**

	PAZIENTI	POSITIVI	SENSIBILITÀ GLOBALE
TOTALI	17	17	100%

La scintigrafia recettoriale ha identificato complessivamente 12 tumori primitivi (sensibilità 100%) nei pazienti in fase di prima valutazione diagnostica. Ha inoltre identificato 33 aree di estensione di malattia oltre la sede primaria e, precisamente, 5 lesioni a livello linfonodale, 27 lesioni in ambito epatico ed 1 lesione a livello mediastinico.

Infine è stata correttamente identificata e localizzata un'area di recidiva di malattia in regione pelvica.

Riassumendo il numero e la sede delle localizzazioni primitive e/o metastatiche individuate con le tecniche di imaging morfologico convenzionale e i risultati forniti dalla scintigrafia con ¹¹¹In-pentetreotide, si ottengono i seguenti dati:

- nei 12 pazienti con NET primario la scintigrafia con ¹¹¹In-pentetreotide ha individuato 12 lesioni primitive e 28 metastatiche. L'esame ecotomografico, eseguito in 10 dei 12 pazienti ha identificato 6 lesioni primitive e 17 lesioni metastatiche, tutte in ambito epatico. L'indagine TC, eseguita in 11 pazienti ha identificato 8 lesioni primitive e 10 lesioni secondarie, tutte a localizzazione epatica.
- nei pazienti con NET recidivante o metastatico la scintigrafia con ¹¹¹In-pentetreotide ha individuato 1 recidiva loco-regionale. In 3 casi l'indagine scintigrafica ha evidenziato secondarismi epatici (localizzazione unica in un caso e plurima in due casi) ed in 1 caso metastasi multiple in sede mediastinica.

Il rilievo di una sensibilità diagnostica assoluta (100%) dev'essere valutato in relazione al numero di casi relativamente esiguo ed ai seguenti fattori:

- 1) intensa espressione recettoriale anche in lesioni di piccole dimensioni ma caratterizzate da una marcata captazione del radiofarmaco.
- 2) panoramicità dell'esame scintigrafico, che permette di individuare lesioni situate in sedi anatomiche escluse dalle indagini radiologiche mirate (ad esempio il caso di metastasi mediastiniche da carcinoma gastrico è, ovviamente, precluso allo studio Eco e TC dell'addome)
- 3) sostanziale predominanza nella casistica di lesioni intensamente espressive i recettori per la somatostatina di tipo 2 e 5 quali il carcinoma ed il gastrinoma.

Dev'essere sottolineato, d'altro canto, che anche due casi di insulinoma (di cui 1 funzionante ed 1 non secernente) sono stati visualizzati dalla scintigrafia recettoriale.

I risultati ottenuti mediante Ecografia e TC permettono di evidenziare una miglior performance dell'ecografia rispetto a quella della TC nella identificazione delle lesioni epatiche mentre, viceversa, la TC ha consentito la dimostrazione di lesioni primarie in ambito ileale e duodenale non visualizzabili con l'ecografia. L'identificazione di lesioni linfonodali appare critica per entrambe le metodiche in verosimile relazione al criterio dimensionale cui rimane affidata la definizione di adenopatia sospetta.

Complessivamente apparirebbe necessario un approccio integrato tramite l'impiego delle due metodiche per ottimizzare le informazioni acquisibili sulla neoplasia e sulla sua estensione in ambito addominale.

La scintigrafia recettoriale ha dimostrato, nella limitata casistica esaminata, una sensibilità assoluta nella identificazione dei tumori primari e della malattia recidivante e/o metastatica, identificando anche nei pazienti Eco/TC-positivi un maggior numero di lesioni.

I risultati del nostro studio convergono, quindi, sul ruolo centrale della scintigrafia recettoriale con ¹¹¹In-pentetreotide nella diagnosi e nella valutazione clinica delle neoplasie neuroendocrine: il suo utilizzo in fase di definizione diagnostica consente la valutazione "in vivo" della natura neuroendocrina di lesioni non definite ovvero il riscontro di espressione recettoriale da parte di NETs noti. In fase valutativa e pre-terapeutica l'indagine scintigrafica consente l'acquisizione, mediante una sola metodica, di dati relativi all'estensione di malattia, con una definizione che appare migliore rispetto alle tecniche di imaging morfologico nel loro complesso. L'utilizzo delle tecniche morfologiche appare pertanto di maggiore utilità nel planning terapeutico e nel supporto alla esecuzione di manovre diagnostiche invasive, oltre a costituire un indispensabile substrato morfologico per la interpretazione dello studio scintigrafico nei casi in cui la precisa localizzazione di un'area captante può risultare difficoltosa (ad es. area duodeno-pancreatica).

Patologia dei tumori neuroendocrini: metodiche (cenni)

Colorazioni istochimiche

Una delle prime tecniche utilizzate per l'identificazione di una derivazione neuroendocrina è stata la reazione argentaffine di Masson: essa è basata sulla capacità che hanno alcune cellule di legare ioni argento, che per questo motivo vengono chiamate cellule argentaffini. Altre cellule, definite argentofile, non sono in grado di ridurre spontaneamente gli ioni argenti ad argento metallico, a meno che non si aggiunga alla miscela di colorazione un agente riducente: questo principio è alla base della colorazione di Grimelius.

Le colorazioni di Masson e Grimelius, ancora oggi impiegate, sono utili per identificare neoplasie ben granulate o moderatamente granulate. Purtroppo esse risultano poco utili per identificare tumori meno granulati (es. carcinomi scarsamente differenziati) ed inoltre non forniscono informazioni sul tipo di sostanza prodotta, fatta eccezione per la serotonina che viene evidenziata dalla reazione argentaffine. Queste tecniche risultano quindi utili in una prima fase diagnostica, ma devono essere affiancate da metodiche più specifiche e sensibili (127, 128).

Immunoistochimica

L'immunoistochimica ha rappresentato, negli ultimi anni, la tecnica più importante per lo studio dei tumori neuroendocrini. I progressi tecnologici, che hanno portato alla produzione ed al commercio di numerosi anticorpi mono e policlonali, hanno dato un notevole impulso allo sviluppo delle tecniche immunostochimiche (Polak et al., 1986). L'uso del complesso avidina-biotina-perossidasi (Hsu et al., 1981) e l'introduzione di particolari tecniche di smascheramento antigenico, hanno enormemente aumentato la sensibilità e la specificità di molte immunocolorazioni. L'impiego di metodiche di doppia colorazione ha permesso di tipizzare le cellule neuroendocrine con accuratezza ulteriormente migliorata. Sono oggi disponibili numerosi anticorpi utili per la diagnosi dei tumori neuroendocrini. In particolare essi sono diretti sia contro marcatori endocrini generali (citosolici e granulari), che contro ormoni specifici (129).

Marcatori endocrini generali

- L'enolasi neurone-specifica (NSE), enzima inizialmente isolato nel cervello bovino la cui presenza è stata successivamente dimostrata nelle cellule neuroendocrine e nei tumori da esse derivati (Tapia et al. 1981). L'NSE è una proteina citosolica e la sua presenza non è correlata con

la densità granulare. Per questo motivo essa è particolarmente utile per la diagnosi delle neoplasie poco granulate, come per esempio i carcinomi neuroendocrini scarsamente differenziati.

- La proteina PGP 9.5 (protein gene product 9.5) è un marcatore citosolico inizialmente isolato dal cervello (Doran et al. 1983). Essa è particolarmente utile per dimostrare la natura neuroendocrina di neoplasie scarsamente differenziate come i carcinomi indifferenziati a piccole cellule.
- La sinaptofisina (proteina P38) è una glicoproteina inizialmente isolata nelle vescicole pre-sinaptiche dei neuroni bovini (Jahn et al. 1985). Successivamente è stata dimostrata in numerose cellule del DNES tra cui le cellule delle isole pancreatiche e della midollare del surrene (Gould et al. 1986). L'espressione di sinaptofisina è rilevabile anche nelle cellule delle neoplasie neuroendocrine povere di granuli secretori, per cui è di particolare aiuto, insieme all'espressione di NSE e proteina PGP 9.5, nella diagnosi delle neoplasie scarsamente differenziate (Gould et al. 1987). Simile significato rivestono altre 2 molecole: la sinapsina e la sinaptobrevina (VAMP-1).
- Le cromogranine sono proteine anioniche inizialmente isolate nei granuli secretori, contenenti catecolamine, delle cellule della midollare del surrene (O'Connor e Frigen 1984; Schmieder et al. 1967). Esistono almeno tre forme molecolari tra loro correlate chiamate cromogranina A (CgA), cromogranina B (CgB) o secretogranina I e cromogranina C (CgC) o secretogranina II (Winkler e Fischer-Colbrie 1992) e queste molecole sono presenti in quasi tutte le cellule del DNES e nei relativi tumori ((Winkler e Fischer-Colbrie 1992; Rindi et al. 1986).

Le cromogranine sono, pertanto, marcatori particolarmente utili per la diagnosi dei tumori ben granulati.

Sebbene le funzioni biologiche delle varie cromogranine non siano ancora del tutto note, esse sembrano svolgere numerose funzioni. La CgA è la molecola più studiata e sembra coinvolta nei meccanismi di accumulo delle catecolamine nei granuli secretori, sembra inibire il clivaggio proteolitico di proormoni da parte della tripsina e sembra regolare i meccanismi che portano alla formazione dei granuli secretori. La CgA è anche il precursore della pancreostatina, inibitore della secrezione di insulina, della -granina e della cromostatina (Iacangelo et al. 1988; Hutton et al. 1987; Galindo et al. 1991), mentre il GAWK e la CCB sembrano derivare dal clivaggio della CgB (Winkler e Fischer-Colbrie 1992; Iguchi et al. 1990).

Marcatori ormonali

Esistono oggi in commercio numerosi anticorpi specifici mono e policonali diretti contro i vari ormoni. Il loro impiego permette la corretta

tipizzazione delle neoplasie e quindi risulta indispensabile nella diagnostica anatomo-patologica.

Marcatori di prognosi

I carcinomi neuroendocrini scarsamente differenziati, sono neoplasie aggressive con prognosi infausta a breve termine. Le neoplasie ben differenziate sono invece tumori con una prognosi variabile e non prevedibile sulla base del semplice esame istopatologico.

Il carattere di malignità delle neoplasie endocrine ben differenziate, con l'eccezione del carcinoma midollare della tiroide, è inoltre basato sul riscontro di aggressività locale e di metastasi linfonodali o ematogene. Poiché la presenza di metastasi non è sempre clinicamente o radiologicamente rilevabile al momento della diagnosi, alcuni tumori possono essere erroneamente classificati come benigni, anche se in realtà la loro storia naturale ne dimostrerà l'evoluzione maligna.

Negli ultimi anni sono stati studiati molti marcatori immunoistochimici, istochimici e morfologici per tentare di individuare quelle neoplasie che, prive di segni sicuri di malignità al momento della diagnosi, fossero invece da considerare, se pur a basso grado, maligne.

Dei molti marcatori studiati sembra che l'espressione immunoistochimica di Ki67, identificata spesso con il clone anticorpale MIB1, sia un utile marcatore di malignità e risulti, inoltre, correlato alla prognosi dei pazienti (La Rosa et al., 1996; Rindi et al. 1999).

La presenza di invasione vascolare è inoltre risultata essere un buon marcatore di malignità nelle neoplasie endocrine pancreatiche e gastriche (La Rosa et al., 1996; Rindi et al., 1999). E' importante sottolineare che il ruolo dell'immunoistochimica risulta fondamentale per una corretta identificazione dell'invasione vascolare, che deve essere valutata su sezioni immunocolorate con anticorpi diretti contro antigeni endoteliali (fattore VIII, CD31, CD34): in questo modo non vengono confusi artefatti tecnici, dovuti all'allestimento delle sezioni istologiche, con la reale invasione vascolare.

La sensibilità e la specificità delle valutazioni dell'invasione vascolare aumenta sensibilmente con l'impiego delle tecniche immunoistochimiche (Capella et al., 1997) (130).

Ibridazione in situ

Il termine di "ibridazione in situ" si riferisce alla localizzazione di sequenze nucleotidiche nel tessuto. In particolare, vengono utilizzati "probes" a filamento singolo o doppio di DNA o RNA oppure oligodeossiribonucleotidi sintetici che sono complementari all'mRNA intracellulare. I probes possono essere marcati con molecole radioattive o con molecole non radioattive quali la fosfatasi alcalina, la biotina o la digossigenina (Polak e Marangos, 1990). Il vantaggio di queste metodiche risiede nel fatto che è possibile

identificare le cellule tumorali endocrine anche quando contengono un prodotto ormonale così scarso da non poter essere evidenziato con le metodiche immunocitochimiche. In questi ultimi anni la tecnica è stata ampiamente utilizzata ed ha avuto una sempre maggiore espansione grazie alla commercializzazione di probes specifici in grado di identificare sia l'mRNA che codifica per marcatori endocrini generali che specifici (131, 132, 133).



Figura 7. Scintigrafia whole body e SPECT toracica con ^{111}In -pentetrotide: carcinoma bronchiale.

Studio delle neoplasie di origine non-neuroendocrina

Le cellule del sistema neuroendocrino diffuso sono rappresentate in molti tessuti normali ed in molti tessuti neoplastici di derivazione non-neuroendocrina. In campo oncologico è noto, ad esempio, che le neoplasie polmonari non-neuroendocrine (NSCLC) possono presentare una diversa quantità di cellule neuroendocrine nel loro contesto e che tale quantità, direttamente proporzionale alla sopravvivenza ed alla risposta alla chemioterapia, può essere determinata in clinica mediante dosaggio dell'enolasi neurone-specifica (NSE).

Lo studio delle componenti neuroendocrine in neoplasie non-neuroendocrine rappresenta un settore di ricerca particolarmente attivo: la maggior parte della letteratura riguarda, allo stato, l'adenocarcinoma prostatico.

Infatti, cellule neuroendocrine sono diffusamente distribuite nella regione ureteroprostatica (prostata, uretra peniena, dotti prostatici). In particolare, le cellule neuroendocrine intra-prostatiche svolgono attività regolatrice ed esprimono amine bioattive come la serotonina e uno o più ormoni peptidici e/o neuropeptidi (calcitonina, somatostatina, neurotensina, bombesina, PTH-related peptide. Inoltre, contengono ed esprimono enolasi neurone-specifica (NSE) e cromogranina-A (134).

Le cellule neuroendocrine prostatiche non esprimono il recettore per gli androgeni e, pertanto, non sono soggette alla regolazione androgeno-mediata come le cellule epiteliali. Come risultato della differente regolazione delle due popolazioni cellulari le neoplasie prostatiche a differenziazione neuroendocrina sono di solito associate ad una aumentata espressione di NSE e Cg-A e dimostrano una elevata resistenza alla terapia ormonale androgeno-ablativa.

Pertanto, neoplasie prostatiche con evidente differenziazione neuroendocrina dimostrano maggiore aggressività biologica e sono usualmente associate ad una prognosi peggiore (135).

Inoltre è stato ipotizzato un ruolo diretto delle cellule neuroendocrine sulla proliferazione tumorale, mediata dalla secrezione di neuropeptidi ad attività paracrina (136)

La differenziazione neuroendocrina del carcinoma prostatico rappresenta quindi un fattore prognostico negativo, correlato alla ormono-resistenza. Numerosi studi dimostrano la possibilità di valutare tale differenziazione non solo a livello tissutale ma anche mediante l'impiego di marcatori neuroendocrini circolanti (137, 138).

In particolare la Cg-A appare maggiormente accurata dell'NSE: quest'ultima infatti appare, a livello tissutale, espressa nella totalità delle neoplasie mentre molto spesso i livelli sierici risultano nella norma o addirittura indosabili. Questo fenomeno è legato alla differente compartimentalizzazione dei marcatori ed al diverso meccanismo sotteso al loro rilascio in circolo, come evidenziato nel capitolo relativo alle neoplasie del sistema neuroendocrino (139).

Allo stato attuale l'impiego dei marcatori neuroendocrini in questo ambito non è codificato: tuttavia sulla base delle considerazioni esposte è ipotizzabile un impiego clinico di estrema importanza dei marcatori neuroendocrini nella stratificazione prognostica e nel monitoraggio dei pazienti affetti da carcinoma prostatico.

Bibliografia

1. Pearse AGE. The diffuse neuroendocrine system: peptides, amines placodes and the APUD theory. *Progr. Brain Res.* 68: 25-31, 1986.
2. Pearse AGE, Takor-Takor T.: Embriology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. *Fed Proc* 38: 2288-2294, 1979.
3. Fontaine J., Le Dourin N.M.: Analysis of endoderm formation in the avian blastoderm by the use of quail-chick chimeras. *J. Endocrinol. Exp. Morphol.* 41: 209-222, 1977.
4. Abbona Baylin S.B.: "APUD" cells fact and finction. *Trends Endocrinol. Metab.* 1: 198-204, 1990.
5. Speranza V., Lomanto D., D'Alessandro M., Mariani P.: Il sistema neuroendocrino diffuso. *Atti del Congresso Nazionale SIEC*, 65-72, Monduzzi Ed. Bologna 20-22, Novembre 1994.
6. Fujita T., Kobayaschi S.: The cells and hormones of the GEP endocrine system: the current of studies. In: Fujita T (ed.). *Gastroenteropancreatic Endocrine System: A Cell Biological Approach*. Tokyo: Igaku-Shoin; 1-16, 1973.
7. Pearse AGE Genesis of neuroendocrine system. In: Friesen SR, Thompson NW (Eds) *Surgical endocrinology* Philadelphia, Lippincott Co 1990, 15-23.
8. Montagnani S., Sciorio S.: Morphology, structure and function of the neuroendocrine cell populations of the gastroenteropancreatic system in Percopo V., Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.
9. Percopo V.: Neuroendocrine tumours: general aspects in Percopo V., Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.
10. Tapia F.J., Polak J.M., Barbosa A.J.A. et al.: neuron specific enolase is produced by neuroendocrine tumours. *Lancet* 1: 808-811, 1981.

11. Doran J.F., Jackson P.J., Kynoch P.M.M.: Thompson R.J. Isolation of PGP 9.5, a new human neuron specific protein detected by high resolution two dimensional electrophoresis. *J. Neurochem.* 40: 1542-1547, 1983.
12. Jahn R, Schiebler W, Ouimet C, Greengard P. A 38.000 dalton membrane protein (P38) present in synaptic vesicles. *Proc. Natl Acad Sci USA* 82: 4137-4141, 1985.
13. Gould V.E., Lee I, Wiedenmann B., Moll R., Chejfec G., Franke W.W.: Synaptophysin: a novel marker for neurons, certain neuroendocrine cells, and their neoplasms. *Hum Pathol.* 17: 979-983, 1986.
14. Gould V.E., Wiedenmann B., Lee I., et al.: Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry. *Am. J. Pathol.* 126: 243-257, 1987.
15. Suzuchi H., Ghatei M.A., Williams S.J. and all.: Production of pituitary protein 7B2 immunoreactivity by endocrine tumours and its possible diagnostic value. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1986; 63: 758-765.
16. O'Connor, Frigon R.P.: Chromogranin A, the major vesicle soluble protein. *J. Biol. Chem.* 259: 3237-3247, 1981.
17. Schmieder F.H., Smith A.D., Winkler H.: Secretion from the adrenal medulla: biochemical evidence of exocytosis. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 31: 94-104, 1967.
18. Winkler H., Fischer-Colbrie R.: The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 49: 497-528, 1992.
19. Wiedenmann B., Huttner W.B.: Synaptophysin and chromogranin/secretogranins-widespread constituents of distinct types of neuroendocrine vesicles and new tools in tumor diagnosis. *Virchows Arch. B. Cell. Pathol.* 1989; 58: 95-121
20. Rindi G., Buffa R., Sessa F., et al.: Chromogranin A, B, and C immunoreactivities of mammalian endocrine cells. *Histochem* 85: 19-28, 1986.
21. Nobels F.R., Kwekkeboom D.J., Bouillon R. et al.: Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours *Eur. J. Clin. Invest.* 1998, 28: 431-440
22. Iacangelo A., Fischer-Colbrie R., Koller K.J., Brownstein M.J., Eiden L.E.: The sequence of porcine chromogranin A messenger RNA demonstrates

- chromogranin can serve as the precursor for biologically active hormone pancreastati. *Endocrinology* 122: 2339-2341, 1988.
23. Hutton JC, Hansen F, Peshavaria M. Proteolytic processing of chromogranin A in purified insulin granules. Formation of a 20kda N-terminal fragment (betagranin) by the concerted action of a Ca^{2+} -dependent endopeptidase and carboxypeptidase. *Biochem. J.* 244: 457-464, 1987.
 24. Galindo E, Rill A, bader MF, Aunis DD. Chromostatin, a 20-amino acid chromogranin A-derived peptide, inhibits chromaffin cell secretion. *Proc natl Acad Sci USA* 88:1426-1430, 1991.
 25. Drees B.M., Hamilton J.W.: Processing of chromogranin A by bovine parathyroid secretory granules: production and secretion of N-terminal fragments. *Endocrinology* 1994; 134: 2057-2063.
 26. Fisher-Colbrie R., Bader M.F., Aunis D. et al.: Sequence analysis, tissue distribution and regulation by depolarization and second messengers of bovine secretogranin II (chromogranin-C) messenger RNA. *Biochem. J.* 1989; 260: 915-922.
 27. Helle K.B., Marley P.D., Hogue-Angeletti R. et al.: Chromogranin-A: secretion of processed products from the stimulated retrogradely perfused bovine adrenal gland. *J. Neuroendocrinol.* 1993; 5: 413-420.
 28. Hutton J.C., Hansen F., Peshavaria M.: Proteolytic processing of chromogranin-A in purified insulin granules. Formation of a 20 KDa N-terminal fragment (betagranin) by the concerted action of a Ca^{2+} - dependent endopeptidase and carboxy-peptidase. *Biochem. J.* 1987; 244: 457-464.
 29. Rosa P., Hille A., Lee T., Zanini A., De Camilli P., Huttner W.B.: The secretogranins I and II. Two tyrosine-sulphated secretory proteins common to a variety of cells secreting peptides by the regulated pathway. *J. Cell. Biol.*1985; 101: 1999-2011.
 30. Watkinson A., Jonsson A.C., Davison M. et al.: Heterogeneity of chromogranin-A derived peptides in bovine gut, pancreas and adrenal medulla. *Biochem. J.* 1991, 276: 471-479.
 31. Corti A., Longhi R., Gasparri A. et al.: Characterisation of circulating chromogranin-A in human cancer patients. *Br. J. Cancer* 1996; 73: 924-932.

32. Strub JM, Goumon J, Lugardon K et al.: Anti-bacterial activity of glycosilated and phosphorylated chromogranin-A derived peptide. *J Biol Chem* 1996, 271: 28533-28540
33. Trump D, Fareen B, Wooding C et al.: Clinical studies of multiple neoplasia type 1 (MEN 1). *Q J Med* 1996, 89: 653-669
34. Pearse AGE: ommon cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobronchial C-cells and calcitonin. *Proceeding of the Royal Society B*. 1968, 170: 71-80
35. Hume DM: Pheochromocytoma in: Astwood EB, Cassidy CE (Eds) *Clinical Endocrinolgy*. New York, Grune and Stratton 2:519, 1968.
36. Quint LE, Glazer GM, Francis IR et al.: Phechromocytoma amd paraganglioma: comparison of MR imaging with CT and I-131 MIBG scintigraphy. *Radiology* 1987, 165: 89.
37. Dayal Y. Neuroendocrine cells of the gastrointestinal tract: introduction and historical perspective. In: *Endocrine Pathology of the gut and the pancreas*: pag 1-31. Dayal Y (Ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida 1991.
38. Granner DK Hormones of the pancreas and gastrointestinal tract in: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (Eds) *Harper's Biochemistry* Prentice-Hall Int 1993.
39. Percopo V, Percopo S: Physiology of biological regulatory messengers of gastroenteropancreatic (GEP) neuroendocrine system in Percopo V, Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.
40. Deschens RJ, Narayama SVL, Argos P et al.: Primary structural comparison of the prehormones CCK and gastrins. *Febs Lett* 1985, 182: 135-138.
41. Percopo V, Percopo S: Physiology of biological regulatory messengers of gastroenteropancreatic (GEP) neuroendocrine system in Percopo V, Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.
42. Percopo V, Percopo S: Physiology of biological regulatory messengers of gastroenteropancreatic (GEP) neuroendocrine system in Percopo V, Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.

43. Kerr DJ, Burt AD, Anderson JR. Tumors of the diffuse endocrine system. *Eur J Surg Oncol*; 13: 189-195, 1987.
44. Percopo V, Lorenzo M, Taddeo F, Cobellis L, Tesauro B. : GEP endocrine neoplasm: classification on clinical and pathophysiologic basis. Abs PW 284 11th CICD World Congress New Delhi India. November 1990.
45. Solcia E, Capella C, Fiocca R, Cornaggia M, Bosi F. : The gastroenteropancreatic endocrine system and related tumors. *Gastroenterol Clin North Am* 1989; 18: 671-693.
46. Capella C, Heitz P, Hofler H, Solcia E, Kloppel G: Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Arch Pathol* 1995, 425: 547-560.
47. Liddle GW, Nicholson WE, Island DP. Clinical and laboratory studies of ectopic humoral syndromes. *Recettori Progr Res* 25: 283-314, 1969.
48. Owyang C, Go VL. Multiple hormone-secreting tumors of the gastrointestinal tract. In Glass GBJ, ed. *Gastrointestinal Hormones*. New York. Raven 741-748, 1980.
49. Percopo V: ECL cell carcinoid tumors in Percopo V, Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors Piccin* 1996.
50. Levine RJ: Serotonine and the carcinoid syndrome in Bondy PK, Rosenberg LE (Eds) *Duncan's disease of metabolism: genetics and metabolism Philadelphia* 1974.
51. Falkmer S. Origin of the parenchymal cellule of the endocrine pancreas: some phylogenetic and ontogenetic aspects. In Mignon M, Jensen RT, *Endocrine Tumors of the Pancreas*. Front Gastrointest Res Basel, Karger, vol 23, 2-29, 1995.
52. Delcore R, Friesen SR: Gastrointestinal neuroendocrine tumors. *J Am Coo Surg* 1994, 178: 187-211.
53. Passaro E jr, Stabile BE, Howard TJ: Contributions of the Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Surg* 1991, 161: 203-206.
54. Findley A, Arenas RB, Kaplan EL: Insulinoma in Percopo V, Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors Piccin* 1996.

55. Bieligk S, Jaffe BM: Vipoma in Percopo V, Kaplan EL (Eds) GEP and multiple neuroendocrine tumors Piccin 1996.
56. Prinz RA: Glucagonoma in Percopo V, Kaplan EL (Eds) GEP and multiple neuroendocrine tumors Piccin 1996.
57. Percopo V, Cobellis L: Somatostatinoma in Percopo V, Kaplan EL (Eds) GEP and multiple neuroendocrine tumors Piccin 1996.
58. Percopo V, Cobellis L.: Neuroendocrine neoplasm with biological inactivity: a new classification. In: Abstract Book IV World Congress of World Association of HPB Surgery: P224 Hong Kong, 7-11, June 1992.
59. Warren WH, Gould VE, Faber LP et al.: Neuroendocrine neoplasms of the bronchopulmonary tract. *J Thorc Cardiovasc Surg* 1985, 89: 819-825.
60. Bork E, Hansen M, Urdal P et al.: Early detection of response in small-cell bronchogenic carcinoma by changes in serum concentrations of creatine kinase, neuron specific enolase, calcitonin, ACTH, serotonin and gastrin releasing peptide. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1988, 24: 1033-1038.
61. Giovanella L, Piantanida R, Ceriani L et al.: Immunoassay of neuron-specific enolase and serum fragments of cytokeratin-19 (Cyfra 21.1) as tumor marker in small-cell lung cancer: clinical evaluation and biological hypothesis. *Int J Biol Markers* 1997, 12: 22-26.
62. Ceriani L, Giovanella L, : Semi-quantitative assessment of ^{99m}Tc-Sesta-MIBI uptake in lung cancer: relationship with response to chemotherapy. *Nucl Med Comm* 1997, 18: 1087-1097.
63. Webb TA, Sheps SG, Carney JA: Differences between sporadic pheochromocytoma and pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2. *Am J Surg Pathol* 1980, 4: 121-126
64. Cunningham RT, Jhonston CF, Irvine GB et al.: Serum neuron-specific enolase levels in patients with neuroendocrine and carcinoids tumours. *Clin Chem Acta* 1992, 212: 123-131.
65. Obyrne KJ, Hamilton D, Robinson I et al.: Imaging of medullary carcinoma of the thyroid using ¹¹¹In-labelled anti-CEA monoclonal antibody fragments. *Nucl Med Commun* 1992, 13: 142-148.

66. Wheeler MH, Bundred NJ: Family screening in the MEN1 and MEN2 syndromes in D'Amico DF, Favia G (Eds) *Controversies in endocrine surgery* Indaco Libri, Padova 1992.
67. The European Consortium of MEN1: Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. *Hum Mol Genet* 1997, 6: 1169-1175.
68. Calander A, Giraud S, Cougard P et al.: Multiple endocrine neoplasia type 1 in France: clinical and genetic studies. *J Intern Med* 1995, 238: 263-268.
69. Trump D, Farren B, Wooding C et al.: Clinical studies of multiple neoplasia type 1. *Q J Med* 1996, 89: 653-669.
70. Eng C, Smith DP, Mulligan LN et al.: Point mutation within the tyrosine-kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2B and related sporadic tumours. *Nature Genetics* 1994, 3: 237-241
71. Hofstra RMW, Landsvater RM, Ceccherini I et al.: A mutation of the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature* 1994, 367: 375-376.
72. Reubi JC, Modigliani E, Calmettes C et al.: *In vitro* and *in vivo* identification of somatostatin receptors in medullary thyroid cancer, pheochromocytomas and paragangliomas in Calmettes C, Giuliana JM (Eds) *Medullary Thyroid Carcinomas* J.Libbey Eurotext Ltd. London 1991.
73. Giovanella L, Ceriani L, Bandera M, Beghè B, Roncari G: Evaluation of the serum markers CEA, NSE, TPS and Cyfra 21.1. in lung cancer. *Int J Biol Markers* 1995, 10: 156-160.
74. Jhonson PWM, Joel SP, Love S et al.: Tumour markers for prediction of survival and monitoring of remission in small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1993, 67: 760-766.
75. Cunningham RT, Jhonston CF, Irvine GB, Buchanan KD: Serum neuron-specific enolase levels in patients with neuroendocrine and carcinoid tumours. *Clin Chem Acta* 1992, 212: 123-131.
76. Berendsen HH, De Leij L, Poppema S et al.: Clinical characterization of non-small cell lung cancer and tumours showing neuroendocrine differentiation features. *J Clin Oncol* 1989, 7: 1614-1620

77. Oishi S, Sato T: Elevated serum neuron-specific enolase in patients with malignant pheochromocytoma. *Cancer* 1988; 61: 1167-1170.
78. Giovanella L, La Rosa S, Erba P et al.: Immunoradiometric assay of chromogranin-A (GgA) in diagnosis and staging of neuroendocrine tumours: comparison with neuron-specific enolase (NSE) and correlation with immunohistochemical data. *Eur J Nucl Med* 1998, 25: 890 OS215.
79. Giovanella L, De Palma D, Ceriani L et al. Circulating Cg-A in diagnosis of non-functioning neuroendocrine tumors: comparison with NSE and correlation with immunochemistry ultrastructure and ¹¹¹In-pentetreotide scan. *Eur J Nucl Med*, 1999, in press.
80. Wynick D, Williams SJ, Bloom SR. Symptomatic secondary hormone syndromes in patients with established malignant pancreatic endocrine tumors. *N Engl J Med*, 319: 605-609, 1988.
81. Rosa P, Gerdes HH. The granin family: markers for neuroendocrine cells and tools for the diagnosis of neuroendocrine tumors. *J Endocrinol Invest* 1994; 17: 207-225.
82. Eiden LE, Huttner WB, Mallet J et al.: A nomenclature proposal for the chromogranin / secretogranin proteins. *Neuroscience* 1987, 21: 1019-1021.
83. Deftos LJ: Chromogranin-A: its role in endocrine function and as endocrine and neuroendocrine tumor marker. *Endocrine Rev* 1991, 12: 181-187.
84. Nobels FRE, Kwekkeboom DJK, Bouillon R, Lamberts SWJ: Chromogranin-A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Eur J Clin Invest* 1998, 28: 431- 440.
85. Giovanella L, Erba P, Praloran N, Garancini S. : Evaluation of the analytical and clinical performance of an IRMA method to detect serum levels of chromogranin-A. *Ligand Assay*, 1998, 3(2): 132.
86. Giovanella L, La Rosa S, Ceriani L et al. : Evaluation of a new developed IRMA method to detect serum Cg-A and correlation between circulating Cg-A and ultrastructure of neuroendocrine tumors. *Clin Chem Lab Med*, 1999, in press.

87. O'Connor DT, Deftos LJ: Secretion of CgA peptide producing endocrine neoplasms. *N Engl J Med* 1986, 314: 1145-1151.
88. Stridsberg M, Oberg K, Li Q et al.: Measurements of chromogranin-A, chromogranin-B (secretogranin I), chromogranin-C (secretogranin II) and pancreastatin in plasma and urine from patients with carcinoid tumours and endocrine pancreatic tumours. *J Endocrinol* 1995, 144: 49-59
89. O'Connor DT, Bernstein KN: Radioimmunoassay of chromogranin-A in plasma as a measure of exocytotic sympathoadrenal activity in normal subjects and patients with pheochromocytoma. *N Engl J Med* 1984, 34: 764-770.
90. Cayer PE, Wortsman J, Shan SO et al.: Plasma chromogranin-A as a marker of sympathochromaffin activity in human. *Am J Physiol* 1991, 260: 243-246.
91. Hsiao RJ, Parmer RJ, Takiyyuddin MA et al.: Chromogranin-A storage and secretion: sensitivity and specificity for the diagnosis of pheochromocytoma. *Medicine* 1991, 70: 33-45.
92. Nobels FRE, Kwekkeboom DJK, Bouillon R, Lamberts SWJ: Chromogranin-A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Eur J Clin Invest* 1998, 28: 431- 440.
93. Nobels FRE, Kwekkeboom DJK, Bouillon R, Lamberts SWJ: Chromogranin-A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Eur J Clin Invest* 1998, 28: 431- 440.
94. Nobels FRE, de Harder WW, Kwekkeboom DJ et al.: Serum chromogranin-A in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1994, 131: 589-593.
95. O'Connor DT, Fandian MR, Carlton E, Cervenka JH, Hsiao RJ: Rapid radioimmunoassay of circulating chromogranin-A: *in vitro* stability, exploration of the neuroendocrine character of neoplasia and assessment of the effects of organ failure. *Clin Chem* 1989, 1631-1637.
96. Nobels FRE, Kwekkeboom DJ, Coopmans W, Hoekstra R, Bouillon R, Lamberts SWJ: A comparison between the diagnostic value of the measurement of gonadotropins, alpha-subunit and chromogranin A and their response to TRH in clinically non functioning, alpha-subunit secreting and gonadotroph pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1993, 77: 784-789.

97. Nobels FRE, Kwekkeboom DJ, Coopmans W et al.: Chromogranin-A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, 82: 2622-2628.
98. Syversen U, Jacobsen MB, O'Connor DT et al.: Immunoassay for measurement of chromogranin-A and pancreastatin-like immunoreactivity in humans: correspondence in patients with neuroendocrine neoplasia. *Neuropeptides* 1994, 26: 201-206.
99. Giovanella L, La Rosa S, Erba P, Capella C, Praloran N, Garancini S: Clinical role of chromogranin-A in diagnosis and staging of neuroendocrine tumours: comparison with neuron-specific enolase and correlation with immunohistochemistry and electron microscopy. *J Endocrinol Invest* 1998, 21: 61.
100. Giovanella L, La Rosa S, Ceriani L et al.: Circulating chromogranin-A as marker of neuroendocrine differentiation: comparison with ultrastructural findings in neuroendocrine tumours. Abstract Book 10th Int. Symposium on Chromaffin Cell Biology, Bergen (norway) 22nd-27th aug 1999.
101. Giovanella L, La Rosa S, Ceriani L et al.: Chromogranin-A as serum marker for neuroendocrine tumours: comparison with neuron-specific enolase and correlation with immunohistochemical findings. *Int J Biol Markers* 1999, 16: 140-144.
102. Baudin E, Gigliotti A, Ducreux M et al.: Neuron-specific enolase and chromogranin-A as markers of neuroendocrine tumours. *Br J Cancer* 1998, 78: 1102-1107.
103. Lamberts SWJ, Bakker WH, Reubi JC, Krenning EP: Somatostatin-receptor imaging in the localization of endocrine tumours. *N Engl J Med* 1990, 323: 1246-1249.
104. Patel YC. : General aspects of the biology and function of somatostatin. In: Well C, Muller EE, Thorner MO, eds. *Basic and clinical aspects of neuroscience*. Berlin: Springer; 1992, 1-16.
105. Krenning EP, Bakker WH, Breeman WAP et al.: *In vivo* use of radioiodinated somatostatin analogue: dynamics, metabolism and binding to somatostatin receptor positive tumors in man. *J Nucl Med* 1991; 32: 1184-1189.

106. Krenning EP, Bakker WH, Breeman WAP et al.: *In vivo* application of ^{111}In -DTPA-D-Phe-octreotide for detection of somatostatin receptor positive tumors in rats. *Life Sci* 1991; 49: 1593-1601.
107. Krenning EP, Lamberts SWJ, Reubi JC: The role of somatostatin and its analogues in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev* 1991; 12: 450-482.
108. Krenning EP, Bakker WH, Kooij PP, Breeman WAP et al.: Somatostatin receptor scintigraphy with Indium-111-DTPA-D-Phe-1-octreotide in man: metabolism, dosimetry and comparison with iodine-123-tyr-3-octreotide. *J Nucl Med* 1992; 33: 652-658.
109. Reubi JC, Modigliani E, Calmettes C et al.: *In vitro* and *in vivo* identification of somatostatin receptors in medullary thyroid carcinomas, pheochromocytomas and paragangliomas. In: Calmettes C, Guliana JM, eds. *Medullary thyroid carcinoma. Colloque INSERM/Jhon Libey Eurotext Ltd.*; 1991; 211: 85-87.
110. International Commission on Radiological Protection. Radiation dose to patients from radiopharmaceuticals. *IRCP Publication 53*, Oxford: Pergamon Press; 1988.
111. Raynor K, Reisine T: Biochemical and functional properties of somatostatin receptors. *J Neurochem* 1992, 58: 87-93.
112. Sreedharan SP, Kodama KT, Peterson KE et al.: Distinct subsets of somatostatin receptors on cultured human lymphocytes. *J Biol Chem* 1989, 264: 949-953.
113. Rens-Domiano S, Reisine T: Biochemical and functional properties of somatostatin receptors. *J Neurochem* 1992; 58: 87-93.
114. Schwarz AL, Fridovich SE, Lodisch HF: Kinetics of internalization and recycling of the asialoglycoprotein receptor in hepatoma cell line. *J Biol Chem* 1982; 257: 4230-4237.
115. Duncan JR, Welch MJ: Intracellular metabolism of ^{111}In -DTPA-labeled receptor targeted proteins. *J Nucl Med* 1993; 34: 1728-1738.
116. Eden PA, Taylor JE: Somatostatin receptor subtype gene expression in human and rodent tumors. *Life Sci* 1993; 53: 85-90.

117. Vikic-Topic S, Raisch KP, Kvols LK: Expression of somatostatin receptor subtypes in breast carcinoma, carcinoid tumor and renal cell carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 2974-2979.
118. Taylor JE, Theveniau MA, Bashirzadeh R: Detection of somatostatin receptor subtype 2 (SSTR2) in established tumors and tumor cell line: evidence for SSTR2 heterogeneity. *Peptides*, 1994; 15: 1229-1236.
119. Ain K, Taylor K, Tofiq S, Ventakaraman G: Somatostatin receptor subtype expression in human thyroid and thyroid carcinoma cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1857-1862.
120. Modlin IM, Cornelius E, Lawton GP: Use of an isotopic somatostatin receptor probe to image gut endocrine tumors. *Arch Surg* 1995; 130: 367-374.
121. Jamar F, Fiasse R, Leners N, Pauwels S: Somatostatin receptor imaging with ¹¹¹In-pentetreotide in GEP tumors: safety, efficacy and impact on patients management. *J Nucl Med* 1995; 36: 542-549.
122. Lebtahi R, Cadiot G, Sarda L, Daou D et al.: Clinical impact of somatostatin receptor imaging in the management of patients with neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors. *J Nucl Med* 1997; 38: 853-858.
123. Seregini E, Chiti A, Bombardieri E: Radionuclide imaging of neuroendocrine tumours: biological basis and diagnostic results. *Eur J Nucl Med* 1998; 25: 639-658.
124. Iannuzzi MC, Scoggin CH: State of the art: small cell lung cancer. *Am Rev Resp Dis* 1986, 134: 593-608
125. Hoefnagel CA.: Metaiodobenzylguanidine and somatostatin in oncology: role in the management of neural crest tumors. *Eur J Nucl Med* 1994; 21 : 561-581.
126. Shapiro B, Copp JE, Sisson JC, Eyre PLASMATICA et al.: 131-Iodine-metaiodobenzylguanidine for the locating of suspected pheochromocytoma: experience in 400 cases. *J Nucl Med* 1995; 25: 235-250.
127. Grimelius L.: A silver nitrate stain for a₂ cells in human pancreatic islets *Acta Soc Med Upsal* 73:243-270, 1968.
128. Masson P.: La glande endocrine de l'intestin chez l'homme. *Acad Sci* 158:52-61, 1914.

129. Polak JM, van Moorden S.: Immunocytochemistry: modern methods and applications. 2nd ed. John Wright, London, 1986.
130. Capella C, La Rosa S, Solcia E.: Criteria for malignancy in pancreatic endocrine tumors. *Endocr Pathol* 1997
131. Lloyd RV: Use of molecular probes in the study of endocrine diseases. *Human Pathol* 18:1199-1211, 1987.
132. Lloyd RV: Introduction to molecular endocrine pathology. *Endocr Pathol* 4:64-72, 1993.
133. Lloyd RV, Jin L.: In situ hybridization analysis of chromogranin A and B mRNAs in neuroendocrine tumors with digoxigenin-labeled digonucleotide probe cocktails. *Diagn Mol Pathol* 4:143-151, 1995.
134. Di Sant'Agnes PA, Cockett ATK: Neuroendocrine differentiation in prostatic malignancy. *Cancer* 1996, 78: 357-361.
135. Tetu B, Ro JY, Ayala AF et al: Small cell carcinoma of the prostate: Part I: A clinico-pathologic study of 20 cases. *Cancer* 1987, 59: 1083.
136. Di Sant'Agnes PA: Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: recent findings and new concepts. *Cancer* 1995, 75: 1850-1859.
137. Angelsen A, Syversen U, Haugen OA, Stridsberg M, Kjolnerod OK, Waldum HL: Neuroendocrine differentiation in carcinomas of the prostate: do neuroendocrine serum markers reflect immunohistochemical findings?. *Prostate* 1997, 30: 1-6.
138. Cussenot O, Villette JM, Valeri A et al.: Plasma neuroendocrine markers in patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Urol* 1996, 155: 1340-1343.
139. Wu JT, Astill ME, Liu GH, Stephenson RA: Serum Chromogranin-A: early detection of hormonal resistance in prostate cancer patients. *J Clin Lab Anal* 1998, 12: 20-25.

Indice

Editoriale»	3
Il sistema neuroendocrino»	5
La cellula neuroendocrina»	7
Cellule del sistema neuroendocrino diffuso e distribuzione anatomico-topografica»	14
Tumori neuroendocrini»	23
Classificazione»	25
Tumori neuroendocrini del tratto gastro-entero-pancreatico (GEP)»	27
Tumori carcinoidi a cellule enterocromaffini (EC-cells)»	28
Tumori carcinoidi a cellule enterocromaffino-simili (ECL-cells)»	34
Tumori neuroendocrini pancreatici»	35
Tumori neuroendocrini pancreatici non-funzionanti»	40
Tumori neuroendocrini del tratto respiratorio»	41
Carcinoma bronchiale»	41
Microcitoma polmonare (SCLC)»	41
Tumori della linea simpatico-midollare»	43
Feocromocitoma»	43
Tumori del sistema simpatico-cromaffine»	45
Carcinoma midollare tiroideo e neoplasie endocrine multiple»	47
Carcinoma midollare tiroideo»	47
Neoplasie endocrine multiple»	47
Neoplasia endocrina multipla di tipo 1 (MEN-1)»	49
Manifestazioni cliniche»	49
Neoplasia endocrina multipla di tipo 2 (MEN 2)»	52
Strategia diagnostica dei tumori neuroendocrini»	54
Diagnostica “in vitro”»	54
Diagnostica “in vivo”»	58
Scintigrafia recettoriale con ¹¹¹ In-octreotide»	60

Casistica clinica	» 66
Stadiazione della neoplasia	» 67
Scintigrafia recettoriale con ¹¹¹ In-pentetreotide	» 67
Metodiche di imaging morfologico	» 70
Patologia dei tumori neuroendocrini: metodiche (cenni)»	» 74
Studio delle neoplasie di origine non-neuroendocrina	» 78
Bibliografia	» 80
Indice	» 93

Caleidoscopio

Italiano

... il futuro ha il cuore antico  MEDICAL SYSTEMS SpA

1. Rassu S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rassu S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rassu S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rassu S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rassu S.: *L'obesita'*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali del - l'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E., Zanatta G.P., Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico e fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rassu S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.

33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnassi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriagonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M., Biordi L., Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.

72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radio - nuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Infociti B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodel - lamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Im - munoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da prin - cipi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I., Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giu - gno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tis - sutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.

106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Palleschi G., Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina*. Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118. Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute*. Gennaio '98.
119. Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120. National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide*. Marzo '98.
121. Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122. Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123. Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (I)*. Luglio '98.
125. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo I*. Novembre '98.
127. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (II)*. Dicembre '98.
128. Muzi P., Bologna M.: *Tecniche di immunoistochimica*. Gennaio '99.
129. Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: *Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*. Febbraio '99.
130. Castello G., Silvestri I.: *Il linfocita quale dosimetro biologico*. Marzo '99.
131. Aiello V., Caselli N., Chiamenti C.M.: *Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata*. Aprile '99.
132. Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: *Medicina Termale e Malattie Reumatiche*. Maggio '99.
133. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Eosinofili*. Giugno '99.
134. Fusco A., Somma M.C.: *NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*. Luglio '99.
135. Chieffi O., Bonferraro G., Fimiani R.: *La menopausa*. Settembre '99.
136. Giglio G., Aprea E., Romano A.: *Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi*. Ottobre '99.
137. Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: *Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati*. Novembre '99.
138. Giovanella L.: *Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica*. Dicembre '99.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 17, numero 138

Direttore Responsabile

Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: rassu@ssnet.it

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

EDITORE



Consulenti di Redazione

Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione

Letizia Cuccuru

Servizio Abbonamenti

Maria Grazia Papalia
Flavio Damarciasi

... il futuro ha il cuore antico  **MEDICAL SYSTEMS SpA**

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax (010) 803498- 809070.

Internet URL: <http://medicalsistemas.editoria.com> e <http://www.medicalsistemas.it>
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay,
Guida Pratica Immulite®, Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora,
Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa

Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Dicembre 1999
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano