UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA

ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LOS CARCINOMAS NEUROENDOCRINOS DE PULMÓN. RELACIÓN CON VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS, CLÍNICAS, MOLECULARES Y DE VALOR PRONÓSTICO

TESIS DOCTORAL

Diana María Palacios Ortiz

SALAMANCA, 2013

Directora

Elisa Muñoz Torres

VNiVERSiDAD D SALAMANCA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y PATOLOGÍA
SECRETARÍA
Facultad de Medicina,
Avda. Alfonso X El Sabio, s/n. 37007-Salamanca
Tel.923 29 45 00 ext. 1853 Fax. 923 29 45 49
e-mail dpto.bcyp@usal.es
http://www.usal.es/bcyp

Elisa Muñoz Torres, Profesora Titular de Universidad en el Departamento de Biología Celular y Patología de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada "ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LOS CARCINOMAS NEUROENDOCRINOS DE PULMÓN. RELACIÓN CON VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS, CLÍNICAS, MOLECULARES Y DE VALOR PRONÓSTICO", que para optar al Grado de Doctor presenta **Dña. Diana María Palacios Ortiz**, ha sido realizada en la Fundación de Santa Fe de Bogotá (Colombia) y el Departamento de Biología Celular y Patología de la Universidad de Salamanca, en colaboración con el Cancer Center de la Universidad de Nuevo México, Dr. Hugo Arias Pulido, bajo mi dirección, cumpliendo todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa ante el Tribunal Calificador. Considerando que constituye un trabajo de Tesis Doctoral, autorizamos su presentación ante la Comisión de tercer Ciclo de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, firma la presente en Salamanca a veinticuatro de septiembre de 2013.

Fdo. Elisa Muñoz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos los Maestros que se han cruzado en mi camino a lo largo de mi vida. Especialmente a los Maestros en Amor.

Agradezco a Elisa Muñoz Torres, mi hermana.

Agradezco a Rafael Andrade, María José Merino y Hugo Arias Pulido, maestros y amigos.

Agradezco a Fidel Camacho y Alfonso Esguerra, y al Grupo de Tórax de la Fundación Santa Fe de Bogotá por mostrarme con su ejemplo el camino de la patología torácica.

Agradezco a María Teresa Vallejo, epidemióloga, por su ayuda invaluable.

Agradezco a Iván Mojica, patólogo, quien aportó la segunda lectura de los casos.

Agradezco a mis compañeros de la Fundación Santa Fe de Bogotá y de la Universidad Nacional de Colombia el permitirme tomar tiempo para realizar este trabajo; quienes, cuando lo necesitaba, me dieron ánimo para continuar.

Agradezco a mis estudiantes, a quienes debo todo el esfuerzo.

Agradezco a mis hijos y familia su apoyo y tolerancia continuos.

DEDICATORIA

TE LA DEDICO A TI

ÍNDICE

I.- INTRODUCCIÓN ……..... 1

1.- CARCINOMA DE PULMÓN ..…… 2

2.- CARCINOMA NEUROENDOCRINO DE PULMÓN …… 3

2.1.- EPIDEMIOLOGÍA …….. 14
2.2.- FACTORES DE RIESGO …….. 17
2.3.- FACTORES PRONÓSTICOS ……. 19
2.4.- DIAGNÓSTICO ……. 23
2.5.- TRATAMIENTO …… 24
2.6.- HALLAZGOS MOLECULARES ……. 26

3.- HORMONAS APLICADAS AL ESTUDIO DEL CARCINOMA NEUROENDOCRINO DE PULMÓN …… 35

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS …… 45

III. MATERIALES Y MÉTODOS …….. 49

1.- DISEÑO …… 50

2.- LUGAR …….. 50

3.- POBLACIÓN …… 50

3.1.- Población blanco
3.2.- Población de estudio
3.3.- Clasificación
3.4.- Tamaño muestral

4.- PROCEDIMIENTO …….. 51

4.1.- Selección de las muestras
4.2.- Obtención de datos clínicos
4.3.- Realización de Matrices Tisulares
4.3.1.- Construcción de Matrices Tisulares
4.3.2.- Método Inmunohistoquímico
4.3.3.- Valoración de las muestras

5.- VARIABLES …….. 54

6.- MANEJO DE DATOS Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN ….. 60
6.1.- Recolección de datos
Verificación de la calidad de la información
6.2.- Análisis

7.- CONSIDERACIONES ÉTICAS ……. 61
7.1.- Normativa nacional
7.2.- Comité de Ética y aprobaciones institucionales
7.3.- Declaración de conflictos de interés

IV. RESULTADOS ……. 62
1.- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA …….. 63
2.- ANÁLISIS BIVARIADO …….. 78
3.- RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS ……. 82
4.- EVALUACIÓN DE SUPERVIVENCIA …….. 82

V. DISCUSIÓN …….. 85

VI. CONCLUSIONES …….. 103

VII. BIBLIOGRAFÍA …….. 106

LISTADO DE ABREVIATURAS

7TMR	Receptor Trasmembrana Intracelular Heptahelical
AC	Tumor Carcinoide Atípico
ADN	Ácido Desoxirribo-Nucleico
AJCC	American Joint Committee on Cancer
Akt	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 = PKB Protein Kinase B
AKT2	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2 Protein Kinase B
ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase / Tyrosine Kinase Receptor
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ARN	Ácido Ribo-Nucleico
ARNm	Ácido Ribo-Nucleico mensajero
BCL2	B-cell lymphoma 2 Gen
Bmi1	B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog oncogen
BRAF	V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1
BRD4	Bromodomain containing 4
C15orf55	Chromosome 15 open reading frame 55
CAM5.2	Citoqueratina clona CAM5.2 Anticuerpo Monoclonal
Camp	Adenosín Monofosfato Cíclico
CAP	Campo con objetivo de 40X el tamaño es de 0.2 mm2
CCDC6	Coiled-Coil Domain-Containing Protein 6
CD133	Pentaspan Transmembrane Glycoproteins = Prominin 1

CD44	Cell-Surface Glycoprotein Receptor for Hyaluronic Acid
CD56	Neural Cell Adhesion Molecule Cluster of Differentiation 56
CD74	Cluster of Differentiation 74 molecule, major histocompatibility complex, class II invariant chain
CDK10	Cyclin-dependent kinase 10
CDK20	Cyclin-dependent kinase 20
CDK3	Cyclin-dependent kinase 3
CDKN2A	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A = p16INK4a
cDNA	Ácido Desoxirribo-Nucleico Complementario
CEAP	Antígeno Carcino Embrionario Policlonal
c-Fos	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
CK20	Citoqueratina 20
CK5/6	Citoqueratina 5/6
CK7	Citoqueratina 7
CKAE1/AE3	Citoqueratina clon AE1/AE3
CLTC	Clathrin, heavy chain (Hc)
c-MET	met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)
CMKRL2	Chemokine receptor-like 2
CNECG	Carcinoma Neuroendocrino de Células Grandes
CP	Carcinoma Pulmonar
CRTC1	CREB-regulated transcription coactivator 1
CSMD3	CUB and Sushi multiple domains 3
c-Src	v-Src Sarcoma Viral Oncogene Homolog
CTNNB1	Catenin (cadherin-associated protein), beta 1

DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole fluorescent stain
DBD	Dominio de unión a ADN
DIPNECH	Hiperplasia Idiopática Difusa de Células Neuroendocrinas
E2	17β-Estradiol
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EML4	Echinoderm Microtubule-Associated Protein-Like 4
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
ER	Receptores Estrogénicos
ErbB2	v-erb-B Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2
ErbB3	v-erb-B Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog
ErbB4	v-erb-B Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 4
ERCC1	Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, Complementation Group 1
ERK1	Extracellular signal-regulated kinase 3 = Mitogen-activated protein kinase 3= MAPK3
ERK2	Extracellular signal-regulated kinase 2 = Mitogen-activated protein kinase 1 = MAPK1
Erα	Receptor de Estrógenos Alfa
Erβ	Receptor de Estrógenos Beta
ESR1	Receptor de Estrógenos 1 gen
ESR2	Receptor de Estrógenos 2 gen
EWSR1	Ewing Sarcoma Breakpoint Region 1
EZR	Ezrin gen
FGFR3	Fibroblast growth factor receptor 3 = CD333

FISH	Hibridación Fluorescente In Situ
FOS	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog
FSFB	Fundación Santa Fe de Bogotá
G1	G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER-1) agonista
G15	GPER antagonista
GELCC	Genetic Epidemiology of Lung Cancer Consortium
GOPC	Golgi-associated PDZ and Coiled-Coil Motif Containing
GPER	G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1
GPR30	G Protein-Coupled Receptor 30 = GPER
GRK1	G Protein-Coupled Receptor Kinase 1
HB-EGF	Factor de Crecimiento Epidérmico Pro Unión A Heparina
HER-2/neu	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 = ErbB2
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
IASLC	Asociación Internacional para el Estudio del Cáncer de Pulmón
IBC	Carcinoma inflamatorio de mama
IHC	Inmunohistoquímica
ILK	Integrin-linked kinase
KI-67	Antígeno identificado por anticuerpo monoclonal Ki-67
KIF5B	Kinesin Family Member 5B
KLC1	Kinesin Light Chain 1
KRAS	V-Ki-ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog = GTPase KRas

L858R	Mutación de sustitución en posición 858 en EGFR, leucina (L) por arginina (R)
LBD	Dominio de Unión a Ligando
LKB1	Liver Kinase B1 = STK11
LRIG3	Leucine-Rich Repeats And Immunoglobulin-Like Domains 3
LRP1B	LRP1B low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 1B
MAML2	Mastermind-Like 2
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
MAPK10	Mitogen-activated protein kinase 10 = c-Jun N-terminal kinase 3 (JNK3)
MAPKAPK3	Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 3
MEN1	Multiple Endocrine Neoplasia type 1
mER	Receptor de Estrógenos de membrana
MET	Receptor de membrana, ligando es Factor de crecimiento hepatocitario
MIB1	Mindbomb E3 Ubiquitin Protein Ligase 1= anticuerpo contra KI-67
MLL3	Mixed-lineage leukemia 3
Msi2 mRNA	Musashi RNA-binding protein 2
mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
MUC16	Mucin 16 cell surface associated = CA-125 = Carbohydrate Antigen
MYC	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)
MYCL1	V-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog 1, Lung Carcinoma derived
MYCN	V-myc myelocytomatosis viral related oncogene, Neuroblastoma derived = basic

	helix-loop-helix protein 37 (bHLHe37) = N-Myc
NANETS	North American Neuroendocrine Tumor Society
Nanog	Nanog homeobox transcription factor
NCAM	Neural Cell Adhesion Molecule = CD56
NKX2-1	NK2 homeobox 1 = Thyroid Transcription Factor 1 = TTF-1
NLST	National Lung Screening Trial
NR3A1	Nuclear Receptor Subfamily 3, Group A, Member 1
NR3A2	Nuclear Receptor Subfamily 3, Group A, Member 2
NRAS	Neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog
NSCLC	Carcinoma de Célula No Pequeña
NTRK3	Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3
Oct4	Octamer-binding transcription factor 4
OMS	Organización Mundial de la Salud
p107	Retinoblastoma-like 1 (p107) = RLB1
p130	Retinoblastoma-related protein 2 = RBR-2
p16INK4a	p-16 gen = Multiple tumor suppressor 1 = MTS-1 = CDKN2A
PCR	Polymerase Chain Reaction = Reacción en Cadena de Polimerasa
PEBP1	Phosphatidylethanolamine binding protein 1
PI3K	Phosphatidylinositide 3-kinases
PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit alpha
RB1	Retinoblastoma 1
RET	Ret Proto-Oncogene

ROS1	C-Ros Oncogene 1, Receptor Tyrosine Kinase
RP	Receptor de progestágenos
RYR2	Ryanodine Receptor 2
SCLC	Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas
SDC4	Syndecan-4 plasma membrane proteoglycans
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results
SERDs	Selective Estrogen Receptor Down-Regulator
SERMs	Selective Estrogen Receptor Modulators
SLC34A2	Solute carrier family 34 (sodium phosphate), member 2
SMAD4	Mothers against decapentaplegic homolog 4
SMARCA4	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 4
Sox2	SRY (sex determining region Y)-box 2
SRC	V-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) viral oncogene homolog (avian)
STK11	Serine/Threonine Kinase 11 = LKB1 = NY-REN-19 i
STRN	Striatin, calmodulin binding protein
T790M	Sustitución en posición 790 en EGFR, treonina (T) por metionina (M)
TAC	Tomografía Axial Computarizada
TACC3	Transforming, acidic coiled-coil containing protein 3
TC	Tumor Carcinoide Típico
TF	Factor de Transcripción
TFG	TRK-fused gene
TNE	Tumores Neuroendocrinos de pulmón

TNM	Clasificación TNM de los tumores malignos
TP53	Tumor Protein p53
TPM3	Tropomiosina 3
TTF-1	Thyroid Transcription Factor 1
TTN	Titin = conectina
USH2A	Usher syndrome 2A (autosomal recessive, mild)
ZFHX4	Zinc Finger Homeobox 4 Gene
ZNF444	Zinc finger protein 444
ZNF521	Zinc finger protein 521

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los tumores pulmonares neuroendocrinos y sus criterios diagnósticos.

Tabla 2. Recopilación de las tasas de índices de proliferación reportados con Ki-67 (MIB1) en tumores neuroendocrinos pulmonares.

Tabla 3. TNM del AJCC 2010 para la Estadificación de los TNE del Pulmón.

Tabla 4. Fusiones de genes más frecuentes en carcinoma de pulmón.

Tabla 5. Genes más frecuentemente examinados, no comprometidos en carcinoma de pulmón.

Tabla 6. Cantidad de muestras mutadas y su relación con la cantidad de muestras analizadas en carcinoma neuroendocrino de pulmón.

Tabla 7. Variables socio-demográficas, clínicas e histopatológicas.

Tabla 8. Informe de 42 pacientes con Carcinoma Neuroendocrino Pulmonar.

Tabla 9. Medicamentos usados en los pacientes evaluados.

Tabla 10. Análisis descriptivo de los Carcinomas Neuroendocrinos de Pulmón.

Tabla 11. Lugar de Presentación de las Metástasis en pacientes con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón.

Tabla 12. Distribución de los Carcinomas Neuroendocrinos de pulmón según el Estado Tumoral.

Tabla 13. Reactividad de los marcadores de Inmunohistoquímica en el espectro de tumores neuroendocrinos de pulmón.

Tabla 14. Ganglios Linfáticos resecados en pacientes con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón.

Tabla 15. Análisis bivariado de los carcinomas neuroendocrinos pulmonares: TC/AC versus SCLC.

Tabla 16. Características clínicas asociadas a la expresión de GPR30 en las células tumorales de los Carcinomas Neuroendocrinos Pulmonares.

Tabla 17. Análisis bivariado de la expresión de GPR30 en los carcinomas neuroendocrinos pulmonares.

Tabla 18. Seguimiento a supervivencia de pacientes con carcinoma neuroendocrino pulmonar.

Tabla 19. Análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan Meier de incidencias acumuladas.

Tabla 20. Carcinomas neuroendocrinos pulmonares según la institución que atiende al paciente.

Tabla 21. Espectro de TNE y sus sinónimos.

Tabla 22. Comparación de los índices de proliferación celular reportados con Ki-67 en Carcinomas Neuroendocrinos Pulmonares.

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Células neuroendocrinas: células potenciales que originan carcinoma de células pequeñas de pulmón (Cheng CY, 2011).

Gráfico 2. Distribución anatómica de los tumores neuroendocrinos.

Gráfico 3. Incidencia de los tumores neuroendocrinos en Estados Unidos.

Gráfico 4. Distribución de las mutaciones presentes en carcinoma de pulmón, a 24 de julio de 2013.

Gráfico 5. Principales genes con mutaciones en carcinoma de pulmón, a 24 de julio de 2013.

Gráfico 6. Distribución de las mutaciones presentes en carcinoma neuroendocrino de pulmón, a julio 27 2013.

Gráfico 7. Principales genes con mutaciones en carcinoma neuroendocrino de pulmón, a julio 27 2013.

Gráfico 8. ESR1 (Human Gene ESR1, 2013).

Gráfico 9. ESR2 (Human Gene ESR2, 2013).

Gráfico 10. Vías genómica y no genómica de la señalización de estrógenos. (Prossnitz ER, 2011).

Gráfico 11. GPER (Cosmic GPER, 2013).

Gráfico 12. Supervivencia de los pacientes con carcinoma neuroendocrino pulmonar.

Gráfico 13. Curva de Kaplan Meier.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. HE 10X. Tumorcillo (Tumorlet) Carcinoide.

Figura 2. Tumor Carcinoide Típico, localización bronquial.

Figura 3. HE 10X. Patrón organoide de las células tumorales del Tumor Carcinoide Típico, sin necrosis.

Figura 4. Tumor Carcinoide Atípico, imagen macroscópica.

Figura 5. HE 10X. Tumor Carcinoide Atípico. En el recuadro necrosis focal.

Figura 6. Diferentes grados de reactividad para GPER, de acuerdo a la intensidad de la tinción (0 calificado como negativo; 1+, débil; 2+, moderado y 3+, fuerte).

Figura 7. Tumor carcinoide típico con Hematoxilina Eosina, y los marcadores tumorales reactivos para Cromogranina y TTF-1. El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 es bajo.

Figura 8. Tumor carcinoide atípico con Hematoxilina Eosina, y los marcadores tumorales reactivos para Cromogranina y Sinaptofisina. El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 es bajo.

Figura 9. Fragmento tumoral de biopsia pulmonar, HE, con marcado aplastamiento de las células tumorales, el índice de proliferación celular, medido con el marcador ki-67 es alto. Carcinoma de célula pequeña.

Figura 10. Tumor carcinoide típico, células tumorales reactivas para el marcador TTF-1.

Figura 11. Tumor carcinoide típico, Hematoxilina Eosina, y células tumorales reactivas para el marcador Citoqueratina AE1/AE3.

Figura 12. Tumor carcinoide típico imagen macroscópica y HE, productor de ACTH, Serotonina y GH, negativo para Somatostatina.

Figura 13. Tumor carcinoide atípico, imagen macroscópica, Hematoxilina Eosina, y marcadores tumorales reactivo para GPER 2+ y negativo para receptores estrogénicos.

INTRODUCCIÓN

1. CARCINOMA DE PULMÓN

El carcinoma de pulmón (CP) en términos de incidencia, es el cáncer más común en el mundo, con 1,61 millones de casos nuevos o 12,7% del total estimado para 2008 (Globocan, 2013 y el más letal con 1,37 millones de muertes (18,2% del total) (World Health Organization, 2013). La mayoría de los casos se producen actualmente en los países en desarrollo (55%). Por género, es el cáncer más común en los hombres en todo el mundo (1,1 millones de casos, 16,5% del total), con tasas altas en Europa, América del Norte y Este de Asia; y tasas muy bajas en África; en las mujeres, la incidencia ha ido aumentando progresivamente hasta ser el cuarto cáncer más frecuente (516.000 casos, 8,5% de todos los cánceres) y la segunda causa de mortalidad por cáncer (427.000 muertes, 12,8% del total) (Globocan, 2013).

En Colombia, para 2010, según la información del programa Así Vamos en Salud, la tasa de mortalidad por cáncer de pulmón fue de 8,78 por 100.000 habitantes, observando una tendencia ascendente del año 2000 al año 2004, y posteriormente una tendencia constante. En lo concerniente a la mortalidad, es la tercera causa de muerte en hombres y la cuarta en mujeres, y su impacto en las sociedad se refleja en 4.643 años de vida sana perdidos debido a mortalidad o discapacidad ocasionadas por éste (Así vamos en Salud, 2013).

En los últimos años ha incrementado progresivamente en mujeres, asociado entre otros factores al aumento del hábito del tabaquismo (Hill, 2013) (Kajatt, 2013).

La clasificación estándar del CP por la OMS ha sido la separación en carcinomas de célula no pequeña (NSCLC) (carcinoma escamocelular, adenocarcinoma, y carcinoma de célula grande) y en carcinomas de célula pequeña (SCLC) (Travis WD, 2011). El SCLC forma parte del espectro de carcinomas neuroendocrinos de pulmón, siendo de alto grado y estando al otro lado del espectro los carcinomas neuroendocrinos de

bajo grado (tumor carcinoide típico) y de grado intermedio (tumor carcinoide atípico) (Travis WD, 2011).

La prevalencia de los tumores carcinoides pulmonares ha aumentado notablemente, pasando de ser hace 10 años menos del 2% de los CP, al 17% de estos, en la actualidad en Colombia (datos de la Fundación Santa Fe de Bogotá no publicados). Notamos este aumento de prevalencia a principios de la década de 2000, y nos llevó a hacer una revisión del tema al grupo de tórax de la Fundación Santa Fe de Bogotá (FSFB) (Pinzón B, 2006) y a otros grupos de la ciudad (Quintero J, 2008). Siendo esta una tendencia en Latinoamérica y mundial, no sólo para los tumores pulmonares sino para los carcinomas neuroendocrinos a nivel sistémico (ME, 2011) (Guzmán-Toro F, 2007) (Fuentes E, 2000) (Collado JC, 2007) (Yu Tseng F, 2006) (Acioly MA, 2008) (Esteva H, 2011) (Bandres D, 2001) (Bandres D, Tumor carcinoide: evolución y seguimiento a largo plazo: experiencia multicéntrica, 2001) (Novelo V, 1993) (Jiménez L, 2001).

2. CARCINOMA NEUROENDOCRINO DE PULMÓN

El sistema de células neuroendocrinas se divide en dos tipos, unas forman glándulas y otras se distribuyen difusamente en el cuerpo, es decir forman el sistema neuroendocrino difuso. En el primer grupo se encuentran los tipos de células que componen la adenohipófisis, paratiroides, paraganglios y médula adrenal. En el segundo grupo, los tipos de células en la piel, tiroides, pulmón, timo, páncreas, tracto gastrointestinal, tracto biliar y tracto urogenital. Tanto filogenética como ontogenéticamente, las células neuroendocrinas se originan de una célula madre endodérmica local (Eriksson B, 2010). Los tumores neuroendocrinos se derivan del sistema de células neuroendocrinas, por lo tanto pueden ocurrir en muchos lugares en el cuerpo; la mayor parte se produce en el eje gastro-entero-pancreático y en el pulmón (Cakir M, 2011).

Los tumores carcinoides del intestino anterior se derivan de bronquios, pulmón, timo, estómago, primera porción del duodeno y páncreas; los tumores del intestino medio se derivan de la segunda porción del duodeno, yeyuno, íleon, apéndice y colon ascendente, mientras que los tumores del intestino posterior se derivan del colon transverso al recto (Leotlela PD, 2003).

Es importante destacar que los tumores del intestino anterior, y posterior se desarrollan a través diferentes de vías moleculares (Leotlela PD, 2003). Por ejemplo, los del intestino anterior tienen deleciones y mutaciones frecuentes del gen MEN1; los de pulmón frecuentemente tiene pérdida del cromosoma 3p y las mutaciones de p53 y pérdida cromosómica de 5q21 están asociados con tumores más agresivos y pobre supervivencia (Leotlela PD, 2003).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1999 propuso una clasificación para los tumores neuroendocrinos (TNE) de pulmón (Travis WD C. T., 1999); la cual fue revisada en 2004 (WHO, 2004). Reconoce cuatro tipos principales de TNE de pulmón: Tumor Carcinoide Típico (TC), Tumor Carcinoide Atípico (AC), Carcinoma Neuroendocrino de Células Grandes (CNECG), y Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas (SCLC). Estos tumores se agrupan en un sistema de clasificación de tres niveles como carcinoma neuroendocrino de: bajo grado (TC), grado intermedio (AC), y alto grado (CNECG y SCLC) (Tabla 1.) (WHO, 2004).

Esta clasificación fue aceptada por la Asociación Internacional para el Estudio del Cáncer de Pulmón (IASLC), y Moran y Suster han recomendado la clasificación con el término carcinoma neuroendocrino y su graduación (Phan AT, 2010) (Moran CA, 2007). La Tabla 1 resume los criterios diagnósticos y de la clasificación de los tumores pulmonares neuroendocrinos, basado en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud 2004 y Morán 2007 y adaptado de Bertino (Bertino EM, 2009).

Tabla 1. Clasificación de los tumores pulmonares neuroendocrinos y de sus criterios diagnósticos

	Tumor Carcinoide Típico	Tumor Carcinoide Atípico	Carcinoma Neuroendocrino de Células Grandes	Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas
Grado	Bajo	Intermedio	Alto	Alto
Morfología	Bien Diferenciado	Bien Diferenciado	Pobremente Diferenciado	Pobremente Diferenciado
Mitosis por 10 CAP	≤ 2	2-10	>10 (media 70)	>10 (media 80)
Necrosis	No	Presente Focal Punteada	Presente Extensa	Presente Amplia

CAP = campo con objetivo de 40X el tamaño es de 0,2 mm^2 (Bertino EM, 2009)

Los tumores carcinoides bronquiales de tamaño inferior a 0,5 cm se definen como tumorcillos (tumorlets) carcinoides, esto es por el riesgo insignificante de un comportamiento maligno (WD., 2009) (Rekhtman, 2010).

Hiperplasia De Células Neuroendocrinas y Tumorcillos Carcinoides

Las células neuroendocrinas normales del pulmón (conocidas como células Kulchitsky) están presentes como células individuales o como pequeños grupos de 4 a 10 células (conocidas como cuerpos neuroepiteliales) en el epitelio bronquial y bronquiolar. La hiperplasia de

células neuroendocrinas se refiere a la proliferación de células neuroendocrinas individuales, en grupos o lineares, confinadas dentro de la membrana basal. Esta Hiperplasia de células neuroendocrinas suele ser poco evidente con la hematoxilina-eosina. Los Tumorcillos carcinoides se distinguen de la hiperplasia, por extensión más allá de la membrana basal del epitelio respiratorio. Son morfológicamente idénticos al TC, pero se definen por un tamaño inferior a 5mm. Los tumorcillos peribronquiolares por lo general están asociados a fibrosis estromal, que puede conducir a destrucción de los bronquiolos adyacentes. Como una lesión aislada, los tumorcillos carcinoides son un hallazgo incidental bastante común en el pulmón (Travis WD, 2010) (Rekhtman, 2010).

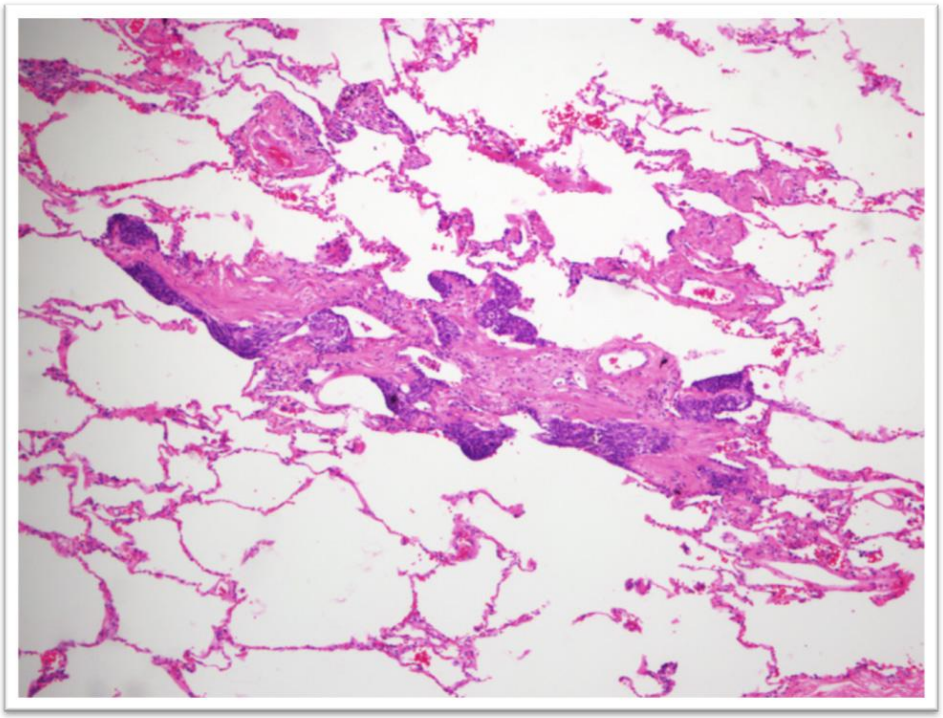


Figura 1. HE 10X. Tumorcillo (Tumorlet) carcinoide.

Los tumorcillos múltiples y la hiperplasia difusa de células neuroendocrinas son raras, y puede observarse en las siguientes tres opciones, las cuales son morfológicamente idénticas, ver figura

En primer lugar, y el más común es el de las lesiones crónicas de los pulmones, como bronquiectasias o fibrosis. En este contexto, las

Proliferaciones neuroendocrinas se consideran de carácter reactivo, y la progresión tumoral no suele ser vista.

En segundo lugar, y menos frecuente, están las proliferaciones neuroendocrinas difusas en un pulmón por lo demás normal (Travis WD, 2010). Esta enfermedad rara se conoce como hiperplasia idiopática difusa de células neuroendocrinas (DIPNECH). En este contexto, se ha documentado la progresión tumoral (a TC y AC), y por lo tanto, DIPNECH se incluyó en la clasificación de la OMS 2004 como una condición pre-neoplásica.

Se desconoce por qué DIPNECH se desarrolla predominantemente en las mujeres.

Por último, la hiperplasia de células neuroendocrinas y los tumorcillos, con frecuencia, se ven en los pulmones resecados por tumores carcinoides (46%-76%), cerca y lejos del tumor. Es incierto si la proliferación neuroendocrina en este contexto se puede considerar un tipo de DIPNECH (Rekhtman, 2010).

Tumor Carcinoide Típico (TC)

Se estima que el 75% de los carcinoides de pulmón son centrales (bronquiales), Figura 2, y el 25% son periféricos. La morfología típica, características de los tumores carcinoides, es similar a la de los TNE bien diferenciados de otros lugares. Las características patológicas que lo definen están: 1. Citología neuroendocrina (cromatina en gránulos gruesos en sal y pimienta, falta de nucléolos prominentes, uniformidad) 2. Patrones arquitecturales neuroendocrinos (organoide, nidos, trabéculas, rosetas) y 3. Vascularización importante. Sólo hasta una mitosis por 10 CAP y la necrosis no está permitida para el diagnóstico de TC, Figura 3, (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

Al igual que en otros lugares, los tumores carcinoides del pulmón tienen patrones de crecimiento muy variable, evocando un conjunto diferente de diagnósticos diferenciales (WHO, 2004) (Rekhtman, 2010).

Figura 2. Tumor Carcinoide Típico, localización bronquial.

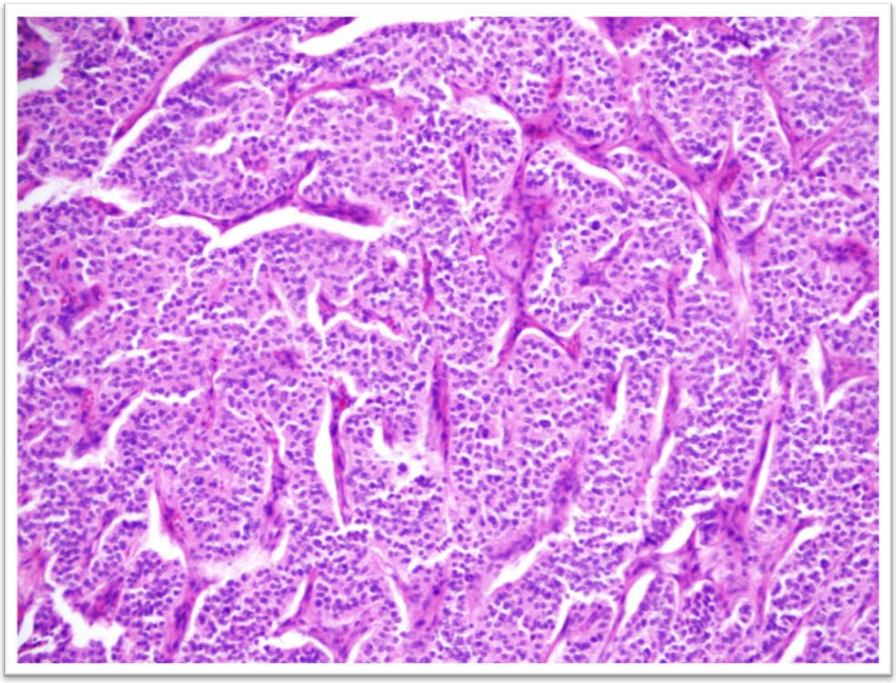


Figura 3. HE 10X. Patrón organoide de las células tumorales del Tumor Carcinoide Típico, sin necrosis.

El TC con patrón glandular deben distinguirse de adenocarcinoma.
El TC de células fusiformes (por lo general periférico) debe distinguirse de los tumores mesenquimales de pulmón y pleura, tumor fibroso solitario en particular, sarcoma sinovial, y tumores del músculo liso.
El TC con patrón de crecimiento anidado deben distinguirse del paraganglioma (aunque el paraganglioma pulmonar primario es muy raro).
El TC con rosetas prominentes y patrón de crecimiento cribiforme se debe diferenciar de un adenocarcinoma metastásico, en especial de carcinoma de mama ductal bien diferenciado y cáncer de próstata.
El TC con características plasmacitoides debe distinguirse de una neoplasia de células plasmáticas y del melanoma.
La Inmunohistoquímica puede resolver efectivamente estos diagnósticos diferenciales. Los TC son reactivos y de manera difusa para marcadores neuroendocrinos (sinaptofisina, cromogranina A, CD56/NCAM). En una pequeña minoría de tumores carcinoides, especialmente en AC, no todos los marcadores se expresan y por tanto, se recomienda el uso de un panel. Aproximadamente el 50% de los carcinoides de pulmón son reactivos para TTF-1, de manera débil y focal. Los TC periféricos son más comúnmente TTF-1 reactivos que los TC centrales. Hay inmunoreactividad difusa para el receptor de estrógeno en más del 50% de los carcinoides pulmonares (típicos y atípicos) (WHO, 2004).

Tumor Carcinoide Atípico (AC)

El Tumor Carcinoide Atípico se define en la clasificación de la OMS 2004 como un tumor neuroendocrino bien diferenciado, con índice mitótico de 2 a 10 mitosis por 10 CAP y con necrosis con un aspecto característico punteado, ubicado en el centro de los nódulos tumorales, asemejándose a comedonecrosis, Figuras 4 y 5. Grandes áreas de necrosis geográfica no son frecuentes. Es común que los AC muestren mayor pleomorfismo nuclear, incluyendo nucléolos e irregularidades de la membrana nuclear,

pero esta característica no es parte de los criterios diagnósticos (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

Figura 4. Tumor Carcinoide Atípico, imagen macroscópica.

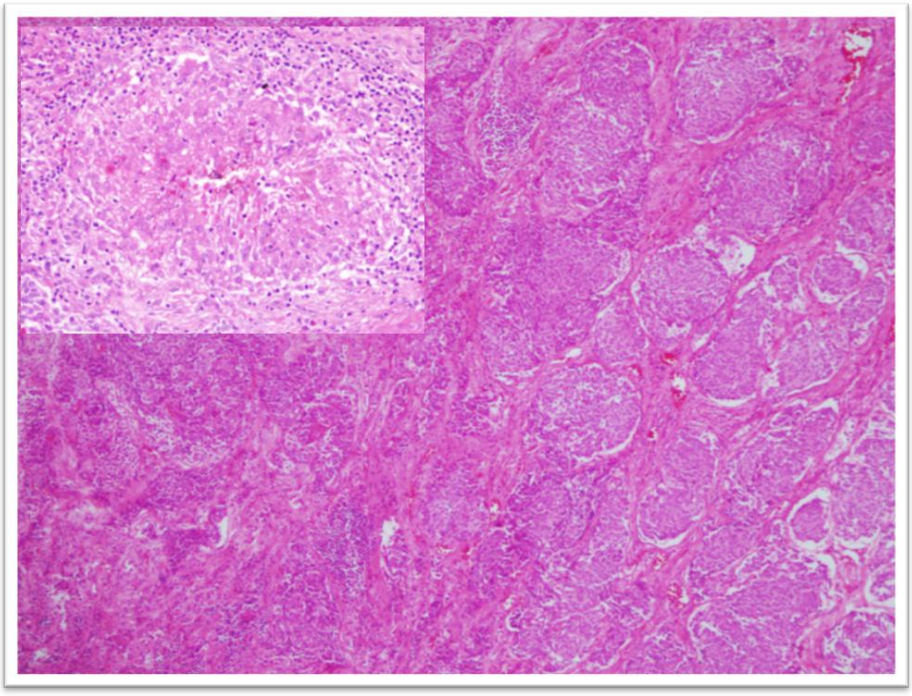


Figura 5. HE 10X. Tumor Carcinoide Atípico. En el recuadro necrosis focal.

Carcinoma de Células Pequeñas del Pulmón (SCLC)

El rasgo patológico que define al SCLC es el aspecto nuclear, que incluye una cromatina finamente granular (distinta de la cromatina grumosa de los carcinoides y de la cromatina vesicular típica de los NSCLC); sin nucléolos prominentes, marcada fragilidad nuclear y moldeamiento nuclear, células fusiformes, y el artefacto de aplastamiento nuclear con la incrustación de los vasos (fenómeno de Azzopardi), escaso citoplasma, bordes poco definidos, índice mitótico alto, cuerpos apoptóticos, y grandes áreas de necrosis geográfica. El tamaño del núcleo de las células es inferior al de 3 linfocitos, aunque puede alcanzar el tamaño de 6 ó 7 linfocitos, e incluso en ocasiones pueden verse células gigantes (WHO, 2004).

Una característica subestimada del SCLC es que puede tener un patrón de crecimiento organoide, en lugar de sábanas destructivas de células similares a linfoma. Se puede observar la empalizada periférica y ocasionalmente estroma desmoplásico (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

El gráfico 1 muestra los tres modelos teóricos existentes sobre el origen potencial de SCLC. El Modelo 1 propone que células madre / progenitoras unipotenciales o células maduras de estirpe de células neuroendocrinas dan lugar al SCLC. Este modelo prevé que las células que carecen de p53 y Rb puedan diferenciarse hacia otros tipos de cáncer de pulmón, como el adenocarcinoma y el carcinoma de células escamosas en algunos casos. El Modelo 2 propone que SCLC surge de las células madre / progenitoras capaces de diferenciarse hacia varios tipos celulares, incluyendo células neuroendocrinas. El Modelo 3 sugiere que al menos algunos de los SCLC podrían surgir de linajes celulares no neuroendocrinos debido a la plasticidad y diferenciación de las células deficientes para p53 y Rb (Cheng CY, 2011).

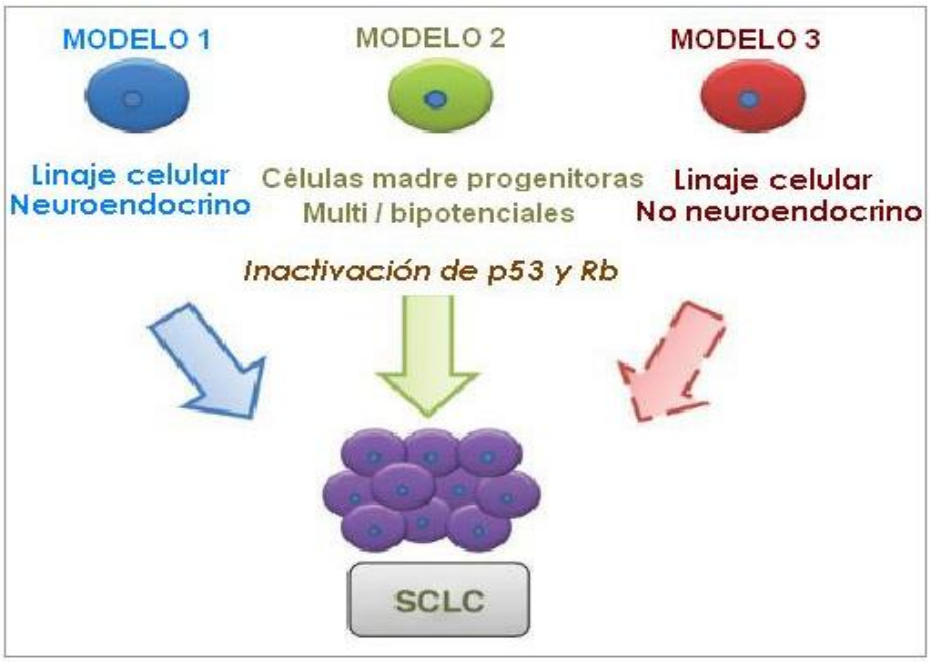


Gráfico 1. Células neuroendocrinas: células potenciales que originan carcinoma de células pequeñas de pulmón (Cheng CY, 2011).

La Inmunohistoquímica (IHC) en general, puede efectivamente resolver los problemas de diagnósticos diferenciales, la expresión de marcadores neuroendocrinos y la expresión del TTF-1 son compatibles con SCLC, mientras que la expresión de p63 y de citoqueratinas de alto peso molecular (CK5/6) son compatibles con carcinoma de células escamosas (WHO, 2004).

Se estima que 70% de los SCLCs son puros, y 30% combinados. La combinación se define como el SCLC en el que hay un componente de NSCLC, incluyendo adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células grandes (mayor al 10%), o carcinoma sarcomatoide. Estos componentes pueden estar presentes en varios focos, dispersos, o como áreas de colisión (WHO, 2004).

Carcinoma neuroendocrino de células grandes (CNECG)

El CNECG se define según la OMS 2004 como un tumor de alto grado (en virtud de la alta tasa de mitosis y necrosis), con arquitectura

neuroendocrina: nidos organoides, empalizada, rosetas, trabéculas. Citología: nucléolos prominentes, cromatina grumosa vesicular, tamaño celular grande y abundante citoplasma. IHC positivo por lo menos para un marcador neuroendocrino (que no sea enolasa neuronal específica). La sinaptofisina y la cromogranina A se coexpresan en la mayoría (70%) de CNECG. El TTF-1 se expresa en el 50%. Al igual que en SCLC, el CNECG puede ser puro o combinado con NSCLC. La combinación más común es con adenocarcinoma (WHO, 2004) (Travis WD, 2010) (Bhamidipati PK, 2011).

Utilidad de KI-67 (MIB1)

La Inmunohistoquímica para Ki-67 (MIB1) no es parte de los criterios de la OMS 2004 para la clasificación de los TNE de pulmón, varios estudios recientes sugieren una utilidad de este marcador, sobre todo en especímenes pequeños como biopsias y citologías. Basado en la recopilación de varios estudios recientes (Tabla 2.), la tasa de proliferación del marcador Ki-67 en TC es inferior al 2%, en AC es inferior al 20% (típica del 10%), mientras que para SCLC y CNECG son superiores al 20% (células pequeñas del 60%-100%). Se sugiere que la tasa de proliferación de Ki-67 menor del 25% excluye el diagnóstico de SCLC (Rekhtman, 2010).

Tabla 2. Recopilación de las tasas de índices de proliferación reportados con Ki-67 (MIB1) en tumores neuroendocrinos pulmonares

Fuente, año	Tipo de Muestra	N	Porcentaje promedio de células positivas para Ki-67 (rango)			
			TC	AC	CNECG	SCLC
Kobayashi, 2004	Resección	57	0,5	5	41	76
Arbiser, 2001	Resección	20	1	9	25	

Igarashi, 2004	Resección	111	1,3 (0,3-2,3)	8,6 (0,2-17)	52 (36-68)	55 (44-66)
Pelosi, 2005	Resección	220	2,3	9	47	64
Iyoda, 2004	Resección	27			42 (28-56)	
Pelosi, 2003	Resección	11			32 (20-61)	
Costes, 1995	Resección	47	0,45	2,4 (0-6)		
Pelosi, 2005	Biopsia	15	0,5 (0-1)	7,2 (17,1)		82 (60-96)
Aslan, 2005	Biopsias y Resección	22	1 (00-10)			60 (25-90)
Lin, 2003	Citología	63	<25			>50
Media ponderada para estudios anteriores			1,5 (0-2,3)	7,7 (0-17)	46 (20-90)	64 (25-96)

2.1.- EPIDEMIOLOGÍA

Yao et al informaron un aumento de incidencia ajustada anual por edad, en Estados Unidos, de TNE de 1,09 por cada 100.000 habitantes en 1973 a 5,25 por 100.000 personas en 2004. Los datos obtenidos de los registros de SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) subestiman el número total de pacientes con TNE porque hay una representación incompleta de la población, además sólo se incluyen los pacientes con TNE corporales malignos. La incidencia de los TNE bronquiales es de 1,35 por 100.000 habitantes por año, representan 1% al 2% de todos los tumores malignos de pulmón y 20% al 30% de todos los TNE. La edad media de presentación es de 64 años (Yao JC, 2008).

El primer lugar de presentación de los TNE en el cuerpo es el tracto gastrointestinal (60,9%), seguido por el pulmón (27,4%), y menos frecuentemente ovarios, testículos, páncreas y hepatobiliar (Yao JC, 2008).

El gráfico 2 muestra la distribución anatómica de los tumores neuroendocrinos de acuerdo con la base de datos SEER de Estados Unidos (Modlin, 2008).

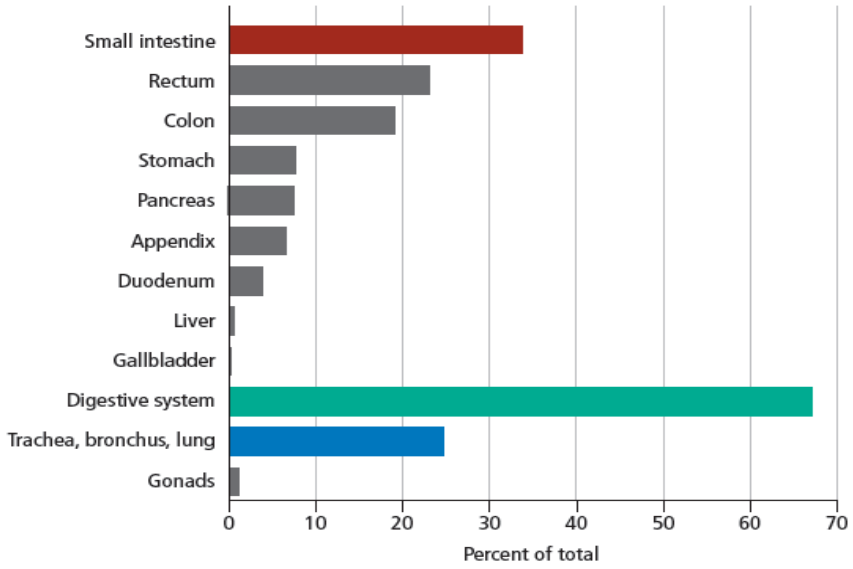


Gráfico 2.Distribución anatómica de los tumores neuroendocrinos.

El gráfico 3 muestra la incidencia de los tumores neuroendocrinos en Estados Unidos, ajustada por edad, de acuerdo con su localización anatómica (Oberg, 2011).

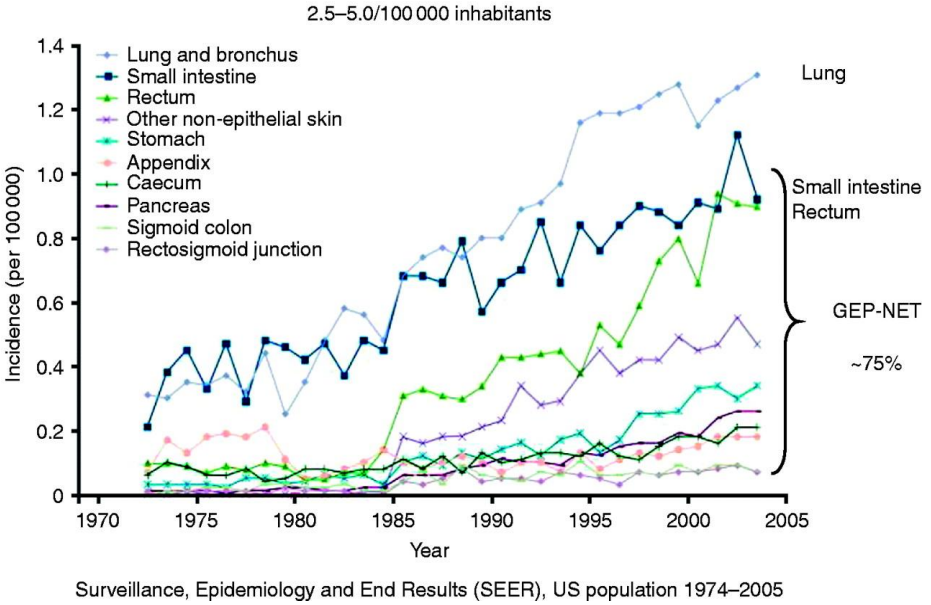


Gráfico 3. Incidencia de los tumores neuroendocrinos en Estados Unidos.

Los TNE bronquiales suelen ser esporádicos, y aproximadamente el 10% tiene alguna característica que sugiere origen hereditario. Estas características son por múltiples tumores (5%) o por la asociación con MEN1 (5%). Los TNE bronquiales en MEN1 tiene la característica añadida de ser una enfermedad con predominio en mujeres (proporción 5:1); sin una explicación clara (Phan AT, 2010).

Los TNE representan 25% de las neoplasias de pulmón primario, el 75% restante lo hacen el NSCLC y los tumores muy raros. El carcinoma neuroendocrino más frecuente de pulmón es el SCLC (20%), seguido por CNECG (3%), TC (2%) y AC (0,2%). La incidencia de los TNE está en alza en Estados Unidos y a nivel mundial (Rekhtman, 2010).

El pulmón es abrumadoramente el lugar de origen más común del carcinoma de células pequeñas en el cuerpo: más de 95% de los carcinomas de células pequeñas se presentan en el pulmón, mientras que los carcinomas de células pequeñas extrapulmonares (por ejemplo, vejiga, próstata, esófago, y cuello uterino) son extremadamente raros (Lobins R, 2007) (Quinn AM, 2012) (Frances N, 2013). Por lo tanto, el diagnóstico diferencial del carcinoma de células pequeñas de origen

desconocido debe incluir el origen pulmonar, como primera consideración (Rekhtman, 2010).

Al estudiar los carcinomas neuroendocrinos de células pequeñas extrapulmonares deben incluirse marcadores tumorales para pulmón, el TTF-1 en combinación con sinaptofisina pueden ayudar a discriminarlo de carcinomas pobremente diferenciados (Quinn AM, 2012).

Hay diferencias notables en el cuadro clínico de los tumores carcinoides versus los carcinomas neuroendocrinos de alto grado: los tumores carcinoides se presentan en pacientes más jóvenes (edad media, 45-50 años), sin predilección por sexo o antecedentes de tabaquismo, mientras que los carcinomas neuroendocrinos de alto grado se presentan predominantemente en pacientes de edad avanzada (edad media 65 años), más frecuentemente en hombres y casi siempre grandes fumadores. La asociación de SCLC con el tabaco es tan fuerte que este diagnóstico en un no fumador se considera excepcional y se reevalúa cuidadosamente (Rekhtman, 2010).

Se ha descrito mayor expresión de receptores de estrógeno GPER en carcinomas pulmonares, sin embargo no se conoce la asociación de la expresión de receptores de estrógeno en los TNE de pulmón.

2.2.- FACTORES DE RIESGO

El CP está asociado con diferentes factores de riesgo, dentro de los cuales se destacan el tabaquismo, la exposición a algunos metales pesados, a material particulado (asbesto), radiaciones ionizantes. En casi todos estos factores se ha demostrado una relación directa con el tiempo de exposición y la aparición de la patología (Hubaux R, 2012).

El hábito de fumar es el principal factor de riesgo para el desarrollo de CP, asociándose a más del 90% de los casos, no sólo directamente sino indirectamente (fumadores pasivos), y en asociación con otras sustancias. Existen otras causas y factores modificadores del riesgo individual, como son la dieta y la susceptibilidad genética (Hecht, Tobacco smoke

carcinogens and lung cancer, 1999). Sin embargo, el consumo de cigarrillo es el elemento que confiere el mayor factor de riesgo para desarrollar la enfermedad. Debido a la clara relación entre el cigarrillo y el CP, se puede considerar al CP como marcador del tabaquismo de una población.

El humo del cigarrillo contiene alrededor de 81 compuestos que se consideran cancerígenos por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) con base en evidencias epidemiológicas y experimentales (Smith CJ, 2003). La fase gaseosa contiene moléculas potencialmente carcinogénicas como óxidos de nitrógeno, isopreno, butadieno, benzeno, estireno, formaldehído, acetaldehído, acroleína y furano, mientras que la fase de partículas cuenta con carcinógenos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, nitrosaminas, aminas aromáticas y metales (cromo, níquel, cadmio) (Nilsson, 2011). Si bien el efecto individual de los carcinógenos del tabaco es difícil de estudiar a nivel molecular, numerosas evidencias experimentales han demostrado la implicación del tabaco en todos los pasos de la carcinogénesis pulmonar (Hecht, 2003) (Gómez Raposo C, 2007) (Husgafvel-Pursiainen, 2004).

Los compuestos carcinogénicos del cigarrillo se absorben y son metabolizados en los individuos fumadores, y muchos de estos compuestos reaccionan con el ADN, provocando mutaciones y alteraciones que conllevan al desarrollo de lesiones pre-neoplásicas (Hainaut P, 1997) (De Flora S, 1996).

Para los tumores carcinoides la causalidad del consumo de tabaco no se ha demostrado, a pesar de varias revisiones retrospectivas, sí sugiere una mayor asociación con los AC (Swarts DR, 2012) (Sartelet H, 2008).

Otros factores carcinogénicos reconocidos son la contaminación ambiental y la menor ingesta de vegetales y frutas frescas, alimentos ricos en antioxidantes naturales, que implicaría menor protección frente al daño oxidativo inducido por los carcinógenos. El desarrollo de la neoplasia pulmonar también se asocia a: predisposiciones genéticas (Bailey-Wilson JE, 2004) (Gorlova OY, 2007), exposición a asbesto (Bilello KS, 2002)

(O'Reilly KM, 2007), radón (Catelinois O, 2006), arsénico, berilio, cromo, níquel, contaminación del aire y radiación ionizante (Kabir Z, 2007); siendo la exposición a asbesto el factor de riesgo ocupacional más común (Bilello KS, 2002).

Por otra parte, la identificación de genes que determinen la susceptibilidad hereditaria a CP, podría proporcionar información importante para identificar a las personas con alto riesgo de desarrollar esta neoplasia. El estudio de Coté y cols, del International Lung Cancer Consortium, muestra un incremento del riesgo de cáncer de pulmón 1,5 veces, atribuible a la historia familiar de CP, sugiriendo que los factores genéticos que no están relacionados con el metabolismo de carcinógenos del tabaco pueden influenciar a las personas a presentar susceptibilidad (Coté ML, 2012).

El estudio de Fang y cols., de análisis de ligamiento en 93 familias, realizado por Genetic Epidemiology of Lung Cancer Consortium (GELCC) sugiere que 6q es un locus de susceptibilidad al cáncer de pulmón y vincula al 12q24 con el CP (Fang S, 2010).

La identificación de un gen en estas regiones, cuya forma se asocie con predisposición a CP, podría utilizarse para identificar a los pacientes con riesgo en estadios tempranos de la enfermedad.

2.3.- FACTORES PRONÓSTICOS

Los TNE del pulmón representan un espectro de comportamiento clínico de indolente (TC) hasta rápidamente fatal (SCLC) (Rekhtman, 2010).

Los pacientes con TC tienen una supervivencia excelente (>87%). Sin embargo, no son tumores benignos ya que los TC son capaces de dar metástasis a ganglios linfáticos regionales en 10% a 15% de los casos, y metástasis a distancia (hígado y hueso más frecuentemente) en 3% a 5%. Por lo tanto, el TC se define como un tumor maligno de bajo grado (Rekhtman, 2010).

El AC es mucho más agresivo que el TC, da metástasis con mayor frecuencia a ganglios linfáticos (50%) y a distancia (20%), y tiene una supervivencia a 5 años del 60%. Se pueden presentar metástasis tardías, y se recomienda un seguimiento mínimo de 10 años (Rekhtman, 2010).

En el otro extremo del espectro clínico está el SCLC, para el que la supervivencia típica todavía se mide en meses, y la supervivencia a largo plazo es muy poco habitual (la supervivencia a 5 años es del 6%). La mayoría de los pacientes tienen metástasis ganglionares hiliares, con frecuencia masivas, y dos tercios de los pacientes presentan metástasis a distancia (cerebro, hígado, hueso, suprarrenales, y médula ósea). El SCLC que se presenta como una masa solitaria, sin evidencia de metástasis es poco frecuente (5% de los SCLC) (Rekhtman, 2010).

El pronóstico del CNECG está menos definido, es una enfermedad muy agresiva, con una amplia gama de supervivencia (15%-57%). En algunas series, el pronóstico del CNECG es tan pobre como el del SCLC. Esta amplia gama de comportamientos clínicos, informada para el CNECG, probablemente refleja los criterios de inclusión y diferentes enfoques de tratamiento en varios estudios (Rekhtman, 2010).

El compromiso ganglionar por el tumor y el subtipo histológico tumoral aparecen como los factores más importantes, que influyen en el pronóstico (García-Yuste, 2007). Marcadores de pronóstico, tales como ERCC1 (gen de reparación del ADN), un posible marcador negativo para la sensibilidad al tratamiento con cisplatino y en la supervivencia sin enfermedad en pacientes no tratados, permanecen en desarrollo (Vanhecke E, 2013).

Los telómeros son complejos de nucleoproteínas situados en el extremo de los cromosomas, evitan la degradación, la fusión extremo a extremo y la reorganización. Recientemente, la longitud de los telómeros se ha propuesto como un factor pronóstico en NSCLC, reflejando indirectamente la inestabilidad cromosómica (Catarino R, 2010) (Chen CH, 2011). El uso de ligandos específicos que conducen a la estabilización de la estructura telomérica cuádruplex G, y por ende a la

limitación de la accesibilidad de la telomerasa a su destino, aparece como una área prometedora de desarrollo (Wu J, 2012).

La Tabla 3 muestra la Estadificación de los TNE bien diferenciados del Pulmón del AJCC 2010.

Tabla 3. TNM del AJCC 2010 para la Estadificación de los TNE del Pulmón

Tumor primario (T)	
TX	El tumor primario no puede ser evaluado, o el tumor fue demostrado por la presencia de células malignas en el esputo o lavados bronquiales, pero no por imágenes o broncoscopia.
T0	No hay evidencia de tumor primario
T1	Tumor ≤3 cm en su diámetro mayor, rodeado por pulmón o pleura visceral, sin evidencia broncoscópica de invasión más proximal al bronquio lobar (es decir, no en el bronquio principal).
T1a	Tumor ≤2 cm en su diámetro mayor.
T1b	Tumor ≥2cm pero ≤3 cm en su mayor dimensión.
T2	Tumor ≥3 cm y ≤7 cm, con cualquiera de las siguientes características (Se clasifican como T2a si es ≤5 cm): compromete el bronquio principal, distal a la carina ≥2 cm, invade la pleura visceral (PL1 o PL2), asociada con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende a la región hiliar, y no afecta a todo el pulmón.
T2a	Tumor ≥3 cm y ≤5 cm en su mayor dimensión.
T2b	Tumor ≥5 cm y ≤7 cm en su mayor dimensión.
T3	Tumor ≥7 cm o uno que invade directamente cualquiera de los siguientes: pleura parietal (PL3), pared torácica (incluyendo tumores del surco superior), diafragma, nervio frénico, pleura mediastinal, pericardio parietal; tumor en el bronquio principal

	(distal a la carina ≤2 cm, sin compromiso de la carina), atelectasia o neumonitis obstructiva de todo el pulmón asociadas, o nódulo (s) tumoral (es) separado (s) en el mismo lóbulo.
T4	Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de los siguientes: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio laríngeo recurrente, esófago, cuerpo vertebral, carina, o nódulo (s) tumoral (es) separado (s) en un lóbulo diferente, ipsilateral.
Ganglios Linfáticos Regionales (N)	
NX	Ganglios linfáticos regionales no pueden evaluarse.
N0	No hay metástasis a ganglios linfáticos regionales.
N1	Metástasis a ganglios linfáticos peribronquiales y / o hiliares ipsilaterales, a ganglios linfáticos intrapulmonares, incluyendo el compromiso por extensión directa.
N2	Metástasis a ganglios linfáticos mediastinales ipsilaterales y / o subcarinales.
N3	Metástasis a ganglios linfáticos mediastinales o hiliares contralaterales, del escaleno ipsilateral o contralateral, o supraclaviculares.
Metástasis a Distancia (M)	
M0	No hay metástasis distantes.
M1	Metástasis a distancia
M1a	Nódulo (s) tumoral (es) separado (s) en un lóbulo contralateral, con nódulos pleurales o derrame pleural (o pericárdico) maligno.
M1b	

Estado Anatómico / Grupos Pronósticos

Carcinoma Oculto	TX	N0	M0
Estado IA	T1a	N0	M0
	T1b	N0	M0

Estado IB	T2a	N0	M0
Estado IIA	T2b	N0	M0

(Phan AT, 2010)

La diferencia en mortalidad con respecto a otros cánceres también comunes, como colon, mama, próstata y cérvix, se debe a que el CP se diagnostica más frecuentemente en estado avanzado. El diagnóstico temprano es fundamental en la obtención de una respuesta favorable en los tratamientos del paciente (García LG, 2011).

2.4.- DIAGNÓSTICO

El CP se sospecha a menudo con base en imágenes de tórax anormales, y/o con síntomas inespecíficos (Corner J, 2005) (Lövgren M, 2008). La broncoscopia se utiliza generalmente como una herramienta de diagnóstico inicial, con la cual se toman las muestras para examen citológico del lavado broncoalveolar, cepillados y biopsias endobronquiales del área sospechosa (Wisnivesky JP, 2013).

A pesar de que la broncoscopia es específica para el cáncer de pulmón, su sensibilidad es baja para lesiones periféricas. Por lo tanto, a menudo se requieren pruebas diagnósticas más invasivas y costosas, retrasando el diagnóstico y el inicio del tratamiento (Rivera MP, 2013).

De hecho, el principal problema del CP es la falta de herramientas para un diagnóstico precoz (Brzeziańska E, 2013), resultando en que más del 60% de los pacientes son diagnosticados con enfermedad avanzada o enfermedad metastásica, y por lo tanto no son elegibles para una resección quirúrgica curativa (Brzeziańska E, 2013) (Yilmaz A, 2008).

Por lo tanto, para aumentar significativamente las probabilidades de cura, se requieren estrategias para detectar precozmente el cáncer de pulmón, que identifiquen al tumor en una etapa en la que es pequeño y definido a

nivel local, e incluso antes que se presenten cambios fenotípicos, con cambios tempranos en el genotipo (Brzeziańska E, 2013).

La tomografía computarizada (TAC) detecta el cáncer de pulmón en tamaños más pequeños y más temprano que la radiografía de tórax que no logró identificar el 79% de los cánceres de pulmón menores de 2 cm (Esposito L, 2010). El National Lung Screening Trial (NLST) demostró que el tamizaje con TAC a dosis bajas en pacientes de alto riesgo reduce la mortalidad por CP (National Lung Screening Trial Research Team, 2011).

2.5.- TRATAMIENTO

Los enfoques de tratamiento para cada uno de los TNE de pulmón son muy diferentes, subrayando la importancia de un diagnóstico patológico exacto. La tasa de supervivencia general a cinco años para los pacientes con NSCLC es inferior al 15%, y se ha mantenido prácticamente sin cambios durante las últimas cuatro décadas.

En 2010, un estudio fase II de erlotinib y bevacizumab para NSCLC metastásico, mostró un beneficio importante. Los marcadores séricos seguirán siendo de interés hasta encontrar, en un futuro cercano, un análisis de sangre tan valioso como el antígeno prostático específico (Stinchcombe TE, 2011).

Siguiendo las normas del tratamiento del NSCLC, el tratamiento del carcinoma neuroendocrino de pulmón debe ser quirúrgico, con una adecuada resección pulmonar y siempre realizar una disección ganglionar mediastinal radical. En todos los casos, la necesidad de un tratamiento adyuvante debe establecerse (García-Yuste, 2008).

No hay una terapia citotóxica convencional para los tumores carcinoides, los nuevos agentes moleculares han demostrado resultados prometedores en ensayos clínicos de fase temprana (específicos de angiogénesis y de la vía mTOR) (Bertino EM, 2009).

Los análogos de somatostatina, además de tener un papel en las imágenes para los tumores carcinoides (gammagrafía de receptores de somatostatina o escanear octreotide), también se utilizan con fines terapéuticos. La utilidad principal es el control de la hipersecreción de los tumores avanzados (raro en los carcinoides de pulmón), estos compuestos no inhiben el crecimiento tumoral y siguen en investigación (Rekhtman, 2010).

Una característica única de los SCLC es que generalmente se consideran una enfermedad no quirúrgica. Estos tumores son muy sensibles a la quimioterapia (cisplatino y etopósido es un régimen estándar) y a la radioterapia. Este dogma se ha cuestionado recientemente, ya que la resección de los SCLC que se presentan como una masa solitaria aumenta la supervivencia (Rekhtman, 2010).

Otra característica clínica única de los SCLC es su propensión a la metástasis cerebral, en 50% a 80% de los pacientes. Por lo tanto, la irradiación profiláctica está indicada en estos pacientes y no en los otros tumores carcinoides o NSCLC (Rekhtman, 2010).

No hay consenso sobre el manejo clínico de los CNECG. Los esfuerzos para establecer pautas de tratamiento se ven obstaculizados por la relativa rareza de este tumor (<3% de los TNE del pulmón) y los retos en la reproducibilidad diagnóstica (Rekhtman, 2010).

Finalmente, no hay estudios publicados fase II y III para los TNE pulmonares, excluyendo al SCLC. Por lo tanto hay varios tratamientos disponibles, pero ninguno de los estudios clínicos ha sido validado con un diseño y un tamaño adecuados. El principal inconveniente de los estudios publicados es que tienen TNE de varios lugares de origen, con comportamientos clínicos diferentes. Es importante que en estudios futuros se consideren estos tumores por separado. Al respecto, puede ser de valor, el aumento de conciencia y el derivar estos pacientes a los centros terciarios, con un manejo multidisciplinario disponible (Gridelli C, 2012).

Los NSCLC deben ser clasificados por el perfil de mutación adquirida presente en el tumor primario. El estándar de atención exige cada vez más que todos los tumores sean sometidos a pruebas genéticas. Del 25 al 50% de los NSCLC tienen patrones de expresión de las mutaciones K-ras, del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), o de la translocación EML4-ALK. En todas estas vías hay fármacos dirigidos que ya están disponibles o están en pruebas clínicas (Kaneda H, 2013).

Sin duda, el mayor desarrollo exhibido últimamente y que impacta el tratamiento del cáncer de pulmón es la identificación de las translocaciones de la proteína-like 4 asociada a microtúbulos equinodermos (EML4) y a la cinasa del linfoma anaplásico (ALK) de genes en el NSCLC. La anormalidad más común, la activación de la proteína ALK, es el resultado de las translocaciones entre genes EML4 y ALK, detectada ya sea por FISH, Inmunohistoquímica o PCR. La importancia de esta alteración molecular se observó en los resultados de la fase I / II del estudio clínico con crizotinib, un nuevo inhibidor de ALK y c-MET (Roberts PJ, 2013) (Stinchcombe TE, 2011). En los pacientes con tumores que tienen esta alteración, la tasa de control de enfermedades ha sido hasta del 90% (Stinchcombe TE, 2011).

2.6.- HALLAZGOS MOLECULARES

Desde el año 2004 hasta el presente, la visión de los CP ha dado un vuelco completo, al describirse diferentes genes involucrados en la patogénesis del CP, que se inicia con la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores, y su impacto clínico al tener tratamiento específico con medicina personalizada (Kirtee Raparia, 2013).

Hay una gran cantidad de información disponible en la literatura científica publicada sobre estos cambios. Se encuentra un sitio en Internet, COSMIC (http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic) diseñado para almacenar y mostrar la información de mutaciones somáticas, ubicación, histología y relación con cánceres humanos.

El gráfico 4 muestra el estado actual para todos los carcinomas pulmonares, en más de 109.000 muestras analizadas, y 22.524 mutaciones encontradas (21%). Las sustituciones son las más frecuentes, corresponden al 68,5% de las mutaciones, seguidas por las deleciones con el 32,8% (Lung carcinoma Distribution Overview, 2013).

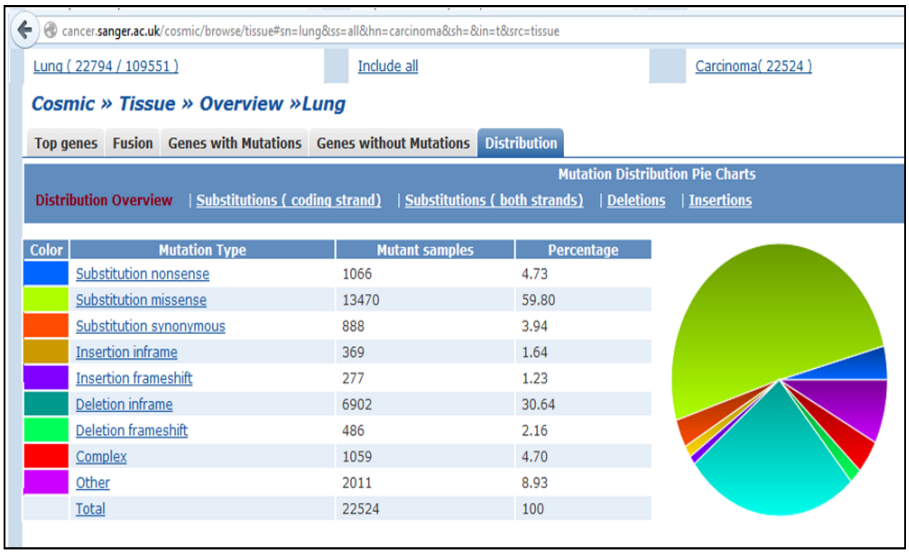


Gráfico 4. Distribución de las mutaciones presentes en carcinoma de pulmón, a julio 24 2013.

Las mutaciones más frecuentes están en los genes TP53, EGFR, KRAS, CDKN2A, RB1, MLL3, STK11, ZNF521, SMARCA4 y PIK3CA. El gráfico 5 muestra la cantidad de muestras mutadas y su relación con la cantidad de muestras analizadas.

Se han descrito 546 fusiones de genes, de las cuales las más frecuentes son EML4 / ALK (79,9%) y KIF5B / RET (8,8%), discriminadas en la tabla 4.

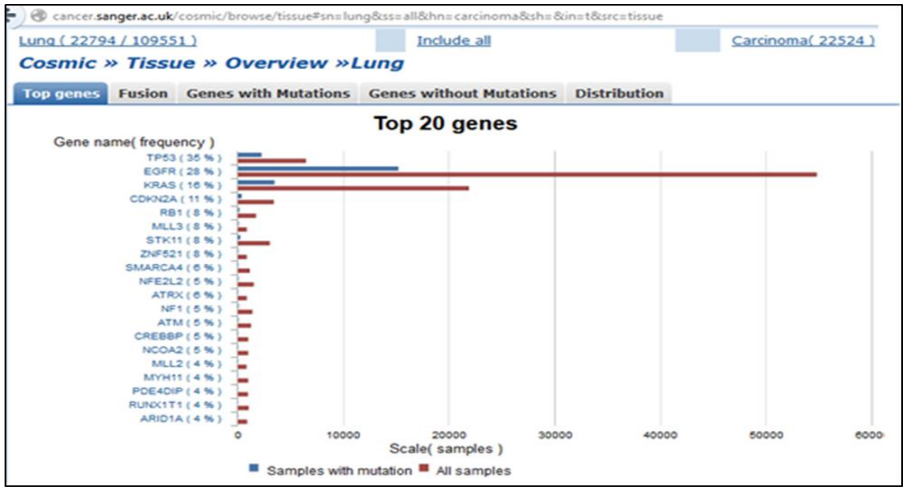


Gráfico 5. Principales genes con mutaciones en carcinoma de pulmón, a julio 24 2013.

Tabla 4. Fusiones de genes más frecuentes en carcinoma de pulmón

Fusiones de Genes	Fusiones	Muestras positivas
EML4 / ALK	25	431
KIF5B / RET	12	48
CD74_ / ROS1	2	15
CRTC1 / MAML2	1	14
EZR / ROS1	2	6
KIF5B / ALK	4	6
CCDC6 / RET	1	5
SLC34A2 / ROS1	2	5
SDC4 / ROS1	2	3
FGFR3 / TACC3	1	2
TPM3_ / ROS1	1	2
EWSR1 / PBX1	1	1
EWSR1 / ZNF444	1	1
KLC1 / ALK	1	1

LRIG3 / ROS1	1	1
MAML2 / CRTC1	1	1
STRN / ALK	1	1
TFG / ALK	1	1
Total	62	546

Tomado de (Cosmic Tissue Overview Lung Fusions) el 27 de julio, 2013 http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#sn=lung&ss=all&hn=carcinoma&sh=&in=t&src=tissue.

La Tabla 5 muestra los genes más frecuentemente examinados, que no se han encontrado comprometidos en los carcinomas pulmonares.

Tabla 5. Genes más frecuentemente examinados, no comprometidos en carcinoma de pulmón

Genes	Muestras mutadas	Muestras examinadas
EML4	0	6842
MAPK10	0	1188
MAPKAPK3	0	1188
ILK	0	1188
PEBP1	0	1168
CLTC	0	1057
GRK1	0	1054
CDK3	0	1054
CDK20	0	1054
CDK10	0	1054

Tomado el 27 de julio de 2013 de

http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#sn=lung&ss=all&hn=carcinoma&sh=&in=t&src=tissue (Cosmic Tissue Overview Lung Genes Without Mutation).

En el estudio de Alvarez y cols, en pacientes colombianos, se determinó la dosis de oncogenes MYCL1, MYCN, MYC, EGFR, erbB2 y AKT2 en ADN de tejido tumoral pulmonar y plasma de pacientes con CP, se comparó con el ADN de tejido pulmonar normal y plasma de individuos sanos, determinando la capacidad de discriminar fenotipos normales y neoplásicos (Álvarez M, 2012). El oncogén AKT2 amplificó el ADN plasmático en 74% de los pacientes, con una probabilidad de 80% de reconocer correctamente una muestra de un paciente con CP versus un individuo sano. Siendo una herramienta muy útil para complementar los métodos de diagnóstico existentes en el CP (Álvarez M, 2012).

Al comparar con los carcinomas neuroendocrinos pulmonares, se encuentran 45 mutaciones. El gráfico 6 muestra que las sustituciones son las más frecuentes, corresponden al 82,2% de las mutaciones encontradas, seguidas por las deleciones con el 13,3%, y no se encuentran fusiones de genes.

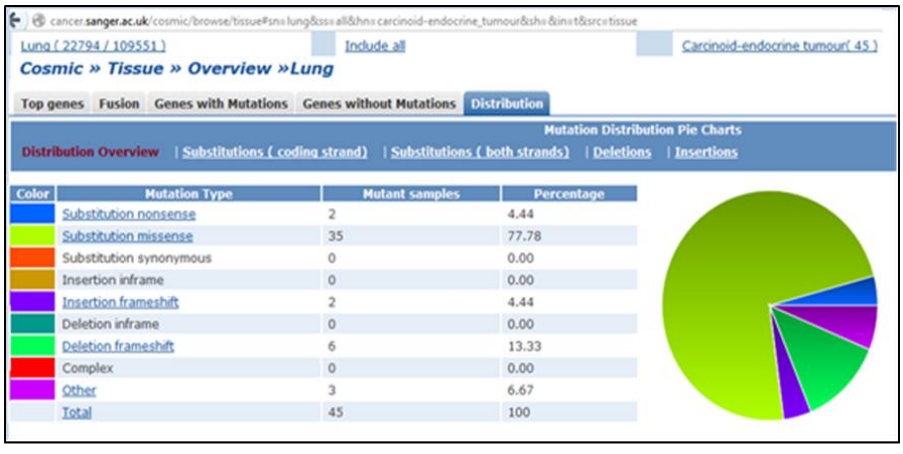


Gráfico 6. Distribución de las mutaciones presentes en carcinoma neuroendocrino de pulmón, a julio 27 2013.

Las mutaciones más frecuentes están en los genes PIK3CA, RB1, MEN1, TP53, KRAS, STK11, CDKN2A y SMAD4. El gráfico 7 y la tabla 6 muestran la cantidad de muestras mutadas y su relación con la cantidad de muestras analizadas.

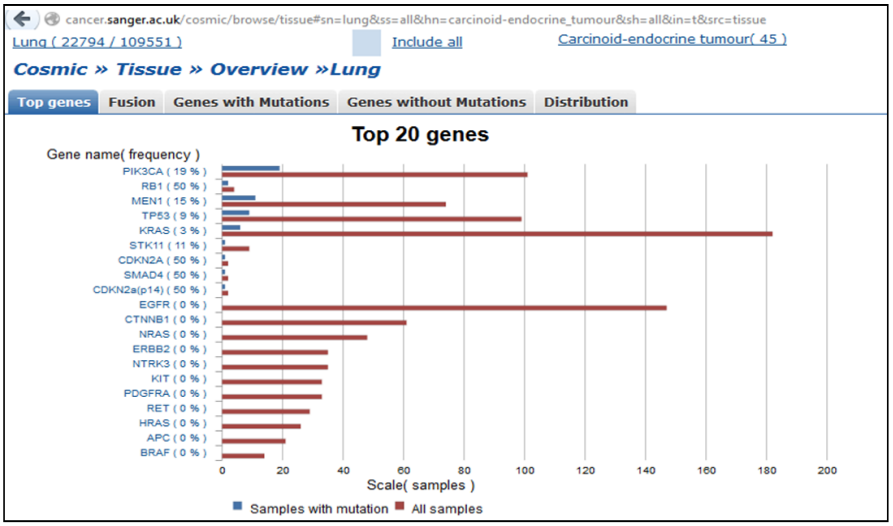


Gráfico 7. Principales genes con mutaciones en carcinoma neuroendocrino de pulmón, a julio 27 2013.

Tabla 6. Cantidad de muestras mutadas y su relación con la cantidad de muestras analizadas en carcinoma neuroendocrino de pulmón

Gene	Muestras mutadas	Muestras analizadas	%
RB1	2	4	50,0%
CDKN2a(p14)	2	4	50,0%
SMAD4	1	2	50,0%
PIK3CA	19	101	18,8%
MEN1	11	74	14,9%
STK11	1	9	11,1%
TP53	9	99	9,1%
KRAS	6	182	3,3%
EGFR	0	147	0,0%

CTNNB1	0	61	0,0%
NRAS	0	48	0,0%
NTRK3	0	35	0,0%
ERBB2	0	35	0,0%

El estudio de Rickman y cols, mostró que 45,8% de TC y 28,6% AC expresan EGFR, 100% de los tumores carecen de expresión de ErbB2, y 100% tienen de moderada a intensa tinción para ErbB3 y ErbB4. La secuenciación del ADN tumoral de los exones 18 a 21 del gen EGFR reveló la ausencia de mutaciones en el dominio de la tirosina quinasa en estos tumores (Rickman OB, 2009).

En general hay dos vías moleculares en la carcinogénesis pulmonar, una está asociada con el tabaquismo y la activación de KRAS y otra en no fumadores con la activación de EGFR.

El proto-oncogén KRAS mutado es responsable de 10-30% de los adenocarcinomas de pulmón. Cuando se activa KRAS, puede dar iniciación a varias vías, la vía MAPK, que regula la proliferación celular y la apoptosis; y la vía fosfoinositol-3-quinasa (PI3K), crucial para regular la respuesta de supervivencia antiapoptótica. Más del 95% de las mutaciones ras se encuentran en los codones 12 y 13, y menos frecuentemente en los codones 59 y 61 (Sekido Y, Molecular genetics of lung cancer., 2003) (Kirtee Raparia, 2013).

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que regula la proliferación celular, la apoptosis, la angiogénesis y la invasión tumoral está sobreexpresado o afectado por mutaciones oncogénicas en NSCLC, y es uno de los blancos principales para el tratamiento del cáncer de pulmón. Algunas mutaciones activan el EGFR, principalmente las deleciones en el exón 19 y la mutación L858R en el exón 21, se asocian con aumento de la respuesta y la supervivencia después del tratamiento con inhibidores de tirosina quinasa; mientras que T790M o inserciones en el exón 20 de EGFR, se asocian con falta de respuesta (Páez JG, 2004) (Shigematsu H, 2006) (Kobayashi S, 2005).

La sobreexpresión del ErbB2 (HER-2/neu) y del BCL2 está implicada en 25% de los casos. Muchos estudios han encontrado mutaciones erbB2 (exones 19-20) en un pequeño subgrupo de pacientes. Estas mutaciones representan a menudo los primeros eventos en la carcinogénesis del adenocarcinoma de pulmón en no fumadores. A través de secuenciación sistemática de los oncogenes se identificaron nuevas mutaciones en BRAF, presentes en 2% de los pacientes con adenocarcinoma, limitadas a los tumores que no tienen mutaciones del gen KRAS (Sekido Y, Molecular genetics of lung cancer., 2003).

Básicamente, las mutaciones EGFR, ErbB2 y KRAS son mutuamente excluyentes y se cree que representan eventos tempranos en la carcinogénesis del adenocarcinoma de pulmón en no fumadores (EGFR y ErbB2), y en fumadores (KRAS).

La ciclina D1 y MYC están amplificados y sobreexpresados en 5% y 2,5-10% de NSCLC, respectivamente (Sekido Y, Molecular genetics of lung cancer., 2003).

Otros oncogenes, cuya expresión se ha encontrado alterado en el cáncer de pulmón, incluyen: MET, NKX2-1, y PIK3CA (Sekido Y, Molecular genetics of lung cancer., 2003).

La proteína tirosina quinasa SRC está activada y sobreexpresada en los NSCLC, sus niveles generalmente se correlacionan con la progresión de la enfermedad, y su inhibición conduce a una disminución del crecimiento celular, a la detención del ciclo celular y a la apoptosis.

La inactivación de genes supresores de tumores es importante en la carcinogénesis pulmonar: el TP53 se encuentra mutado en 60-75% de los carcinomas pulmonares, incluyendo NSCLC y SCLC; el LKB1, cuya pérdida de función por mutación / deleción se encuentra en 30% de los adenocarcinomas y en 20% de los carcinomas de células escamosas de pulmón; el RB1 rara vez se encuentra mutado, mientras que p16INK4a, un activador ascendente de la proteína RB1 y las dos proteínas relacionadas con el p107 y p130, se encuentran frecuentemente

inactivados en los adenocarcinomas de pulmón (Sekido Y, Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer., 1998).

Las modificaciones epigenéticas contribuyen significativamente a la tumorigénesis del cáncer de pulmón. Se ha identificado un gran número de genes metilados aberrantemente en el cáncer de pulmón. La metilación aberrante del promotor del gen supresor de tumores p16 conduce al silenciamiento génico, un evento temprano en la tumorigénesis (Sekido Y, Molecular genetics of lung cancer. 2003).

Recientemente se ha propuesto la teoría que los tumores contienen una pequeña subpoblación de células madres tumorales, responsable del crecimiento tumoral, la invasión y las metástasis (Barr MP, 2013). En el cáncer de pulmón, los marcadores comunes de células madres asociadas incluyen Bmi1, CD133, CD44, Sox2, Nanog, Oct4, Msi2 mRNA. Estos marcadores asociados a células madre tumorales se correlacionan con la tumorigénesis, la progresión y la metástasis, y pueden actuar como marcadores de diagnóstico para varios tumores (Li L, 2013).

La mayoría de los cánceres de pulmón no expresan ninguno de los receptores de estrógeno clásicos, ERα o ERβ. El receptor de estrógeno descrito recientemente, GPER (GPR30), no se ha caracterizado en los TNE de pulmón, se debe determinar la relevancia de GPER en la señalización de estrógenos en este tipo de cánceres de pulmón.

3.- HORMONAS APLICADAS AL ESTUDIO DEL CARCINOMA NEUROENDOCRINO DE PULMÓN

Hasta hace poco se pensaba del CP como un cáncer que afecta principalmente a los hombres, pero en las últimas décadas, debido a la alta tasa de consumo de tabaco entre las mujeres, se ha producido un aumento dramático en el CP entre las mujeres (Siegfried JM, 2009). Desde 1998, las muertes por CP en mujeres superaron a las muertes causados por cáncer de mama en Estados Unidos. Incluso superaron las muertes causadas por cáncer de mama, ovario y cuello uterino, juntas (Ryberg D, 1994) (Siegfried JM, 2009). Las mujeres son más propensas que los hombres a ser diagnosticados con adenocarcinoma y SCLC en comparación con el carcinoma de células escamosas, y los CP diagnosticados en no fumadores (de Andrade M, 2004) (García-Herreros LG, 2011). Los mecanismos moleculares relacionados con CP en mujeres se desconocen y, entre varios factores, las hormonas se han asociado con CP (Brinton LA, 2011).

Algunos datos epidemiológicos indican que las mujeres tienen un mayor riesgo para desarrollar adenocarcinoma de pulmón, en comparación con los hombres, independientemente de la condición de fumador (Kiyohara C, 2010). Bouchardy y cols., informaron la reducción del riesgo de mortalidad por cáncer de pulmón en pacientes con cáncer de mama, que estaban tomando antiestrógenos, y que las mujeres que toman antiestrógenos tuvieron un riesgo significativamente menor de desarrollar cáncer de pulmón (Bouchardy C, 2011).

Los receptores de estrógeno y de aromatasa, la enzima que sintetiza 17β-estradiol, se expresan en los tumores de pulmón, sugiriendo un papel de las hormonas esteroides femeninas en el control del crecimiento del cáncer de pulmón (Siegfried JM, 2009).

Los estrógenos median profundos efectos en el cuerpo, y regulan los procesos fisiológicos y patológicos de mujeres y hombres. La disminución en la incidencia de muchas enfermedades en mujeres premenopáusicas

se atribuye a la presencia de 17β-estradiol, el estrógeno endógeno más potente y predominante (Prossnitz ER, 2011). Los receptores de estrógeno son un grupo de proteínas que se activan por el estrógeno (hormona 17β-estradiol), cada uno con diferentes patrones de expresión. Hay dos clases de receptores, la familia de receptores de estrógeno intracelulares (ER) y el GPER (anteriormente conocido como GPR30) de la familia de receptores de proteína G rodopsina-like (Prossnitz ER, 2011). Los dos receptores de estrógeno clásicos, conocidos como ERα y ERβ, están formados por una sola cadena de 565 y 530 aminoácidos, respectivamente. ERα y ERβ, estimulan rápidamente la señalización genómica y tienen un papel como ligandos que activan factores de transcripción, se unen al ADN y regulan la actividad de diferentes genes (Liang J, 2013) (Prossnitz ER, 2011).

ERα y ERβ están codificados por diferentes genes y su expresión varía dependiendo del tipo de tejido. ERα se expresa predominantemente en órganos reproductivos (útero, mama y ovario), así como en el hígado y en el sistema nervioso central, en tanto que la forma ERβ se expresa mayoritariamente en otros tejidos como hueso, endotelio, pulmones, tracto urogenital, ovario, sistema nervioso central y próstata (Liang J, 2013) (Prossnitz ER, 2011).

Estos receptores, están conformados por seis dominios denotados de la A a la F, codificados por 8-9 exones. Ambos tienen un dominio central de unión al DNA (DBD) muy conservado, y mediante dos “dedos de zinc” se une a secuencias específicas en el promotor o a los sitios “enhancer” de genes regulados por estrógenos. La región carboxilo-terminal del receptor constituye el dominio de unión a ligando (LBD) el cual reconoce a los estrógenos naturales como 17β-estradiol (E2) y a ligandos sintéticos que pueden ser antagonistas totales o SERMs (Moduladores Selectivos del Estrógeno), que pueden activar o inhibir al receptor dependiendo del contexto celular y del promotor (Liang J, 2013).

El gen ESR1 codifica al ERα, también conocido como NR3A1 (nuclear receptor subfamily 3, group A, member 1), compuesto por varios dominios

importantes para la unión de hormonas, de ADN y la activación de la transcripción. La proteína se localiza en el núcleo donde forma un homodímero o heterodímero con ESR2. El estrógeno y sus receptores son esenciales para el desarrollo sexual y función reproductiva, y tiene función en otros tejidos como el hueso. Está implicado también en procesos patológicos como cáncer de seno, cáncer de endometrio y osteoporosis (Smith HO L. K., 2007) (Huang GS, 2010).

El gráfico 8 muestra al ESR1 (Human Gene ESR1, 2013).

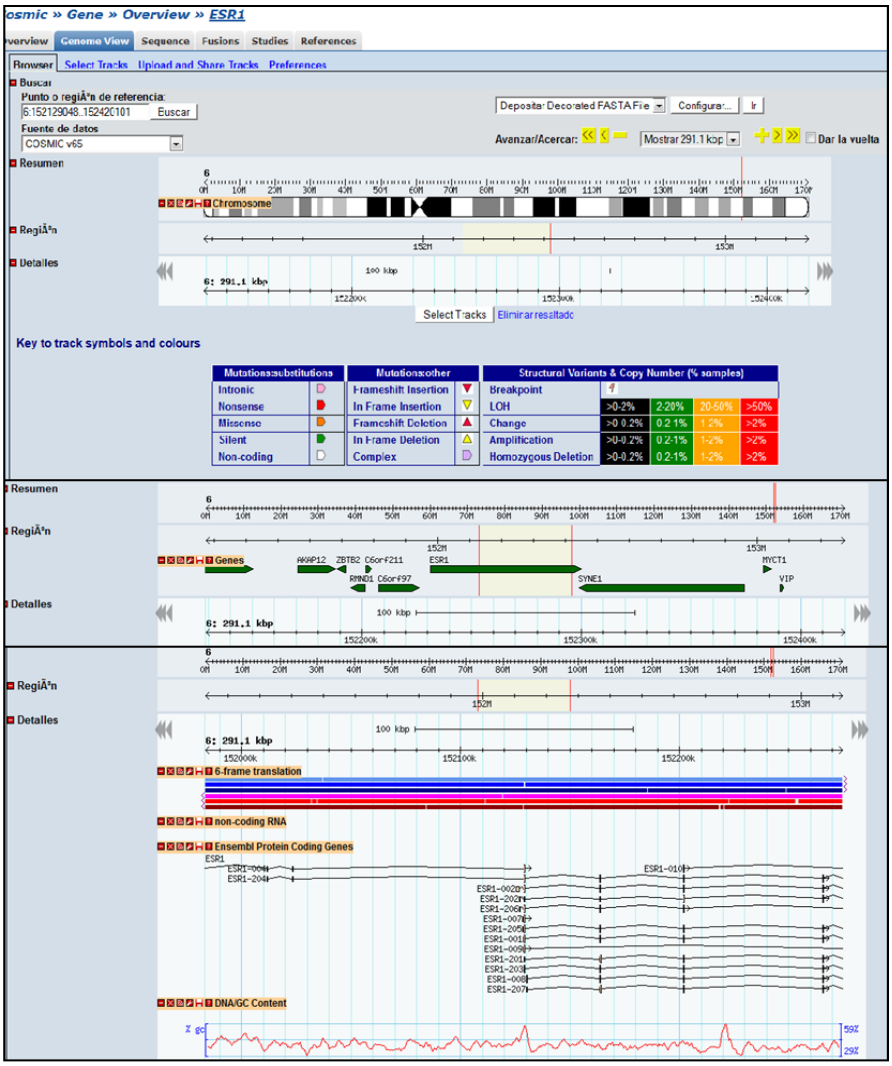


Gráfico 8. ESR1 (Human Gene ESR1, 2013).

El gen ESR2 codifica al ERβ, también conocido como NR3A2 (nuclear receptor subfamily 3, group A, member 2), ERβ tiene también una función adaptativa importante en el pulmón durante la gestación (Carey MA, 2007). Es un supresor de tumores potente, y tiene un papel importante en muchos tipos de cáncer, tales como cáncer de próstata. ER-β se expresa en muchos tejidos, incluyendo monocitos y macrófagos tisulares, células epiteliales de colon, y pulmón y próstata, además en el cerebro en las neuronas (Koehler KF, 2005).

El gráfico 9 muestra al ESR2 (Human Gene ESR2, 2013) (Cosmic catalogue of somatic mutations in cancer ESR2, 2013).

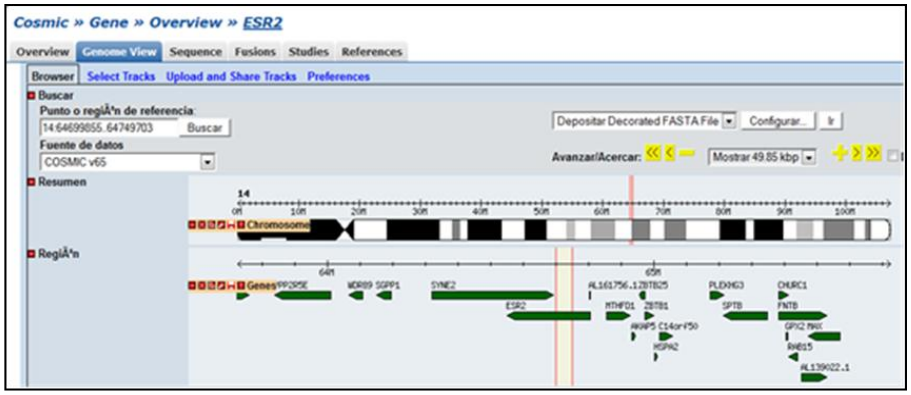


Gráfico 9. ESR2 (Human Gene ESR2, 2013).

Hay un tercer receptor de estrógenos transmembrana intracelular (7TMR), conocido como GPR30 o GPER. Es una proteína G transmembrana de 7 hélices intracelular que funciona junto con los receptores tradicionales de estrógeno, regulando la respuesta fisiológica al estrógeno, implicado en la señalización intracelular, no genómica (Prossnitz ER A. J., 2008).

El GPER, que reconoce con alta afinidad al 17β-estradiol, se expresa en los tumores de pulmón en niveles altos y puede ser responsable por algunas de las señales de proliferación inducidas por el estrógeno (Siegfried JM, 2009)

Los receptores de la proteína G son las moléculas de señal más grandes en el genoma humano. Son proteínas transmembrana heptahelicales, tradicionalmente expresadas en la superficie, donde la unión a agonistas inicia la activación de las proteínas de unión heterotriméricas de nucleótidos de guanina, con los efectos en cascada de fosforilación rápida del receptor, desensibilización, internalización y reciclaje (Prossnitz ER B. M., 2011).

En 1996 identificaron una proteína de 375 amino ácidos en linfoblastos B y la denominaron CMKRL2 (Owman, 1996). En 1997 aislaron el cDNA de CMKRL2 y lo denominaron GPR30. El análisis de secuencia determinó que este clon compartía gran homología con los receptores de proteína G. Se expresa de manera generalizada en todos los tejidos, y más abundantemente en la placenta (Carmeci, 1997).

El GPER, a diferencia de otros receptores de la proteína G, está localizado en el retículo endoplásmico, donde se une específicamente al estrógeno. La estimulación del GPER por el estrógeno, lleva a movilización intracelular del Calcio y a la síntesis de fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato nuclear. El GPER representa un receptor de estrógeno transmembrana intracelular que contribuye a la fisiología y patofisiología del estrógeno (Revankar, 2005).

El GPER actúa de manera independiente de ER y ER es un miembro de la familia de receptores transmembrana acoplados a proteínas G, envía señales a través de vías rápidas de señalización incluyendo PI3K/Akt y MAPK, puede mediar en eventos posteriores como la transcripción y fosforilación de factores de transcripción (TF), influye en la activación del factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Prossnitz ER B. M., 2011). La transactivación del EGFR puede llevar a una activación constitutiva de EGFR, resultante en proliferación, participando en la biología del cáncer (Prossnitz ER B. M., 2011). Este receptor debe tomarse en cuenta como candidato a terapia hormonal, ya que existen moléculas pequeñas que modulan específicamente a este receptor.

El G1 es un ligando específico para GPER. En 2009 se identificó un antagonista selectivo para GPER, el G15, el cual tiene una estructura similar a G1, y es eficaz en la inhibición de todos los efectos del G1 y del 17β-estradiol. Con las estructuras de núcleo de G1 y G15 se han generado varios radiomarcadores que pueden utilizarse potencialmente para el tratamiento de los tumores que expresan en GPER en vivo (Prossnitz ER, 2011). Ver gráfico 10.

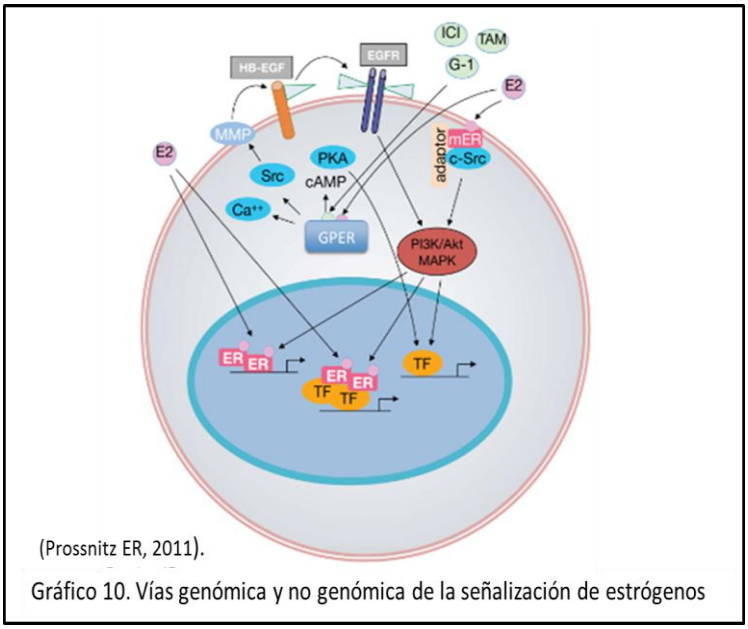


Gráfico 10. Vías genómica y no genómica de la señalización de estrógenos

Gráfico 10. Tomado de Prossnitz ER, 2011. Vías genómica y no genómica de señalización de estrógenos. Los estrógenos endógenos, incluyendo el 17β-estradiol (E2), son activadores, no selectivos, de los tres receptores de estrógeno (ER) conocidos, ERα, ERβ y GPER. El E2 activa ER nucleares, induciendo la dimerización del receptor, y la unión del receptor dimerizado a los promotores de los genes blanco. Los ER activados modulan la función de otros factores de transcripción (TF) a través de interacciones proteína-proteína. Las subpoblaciones de ER activados por E2 en la membrana plasmática (mER) interactúan con las proteínas adaptadas (adaptador) y con moléculas de señalización tales como c-Src, mediando rápidamente la señalización a través de las vías PI3K/Akt y MAPK. El E2, los agonistas selectivos (G-1), los SERDs

(fulvestrant es un antagonista "puro" de ER que lleva a la degradación y / o regulación a la baja de ER, lo que llevó a su designación como Reguladores Selectivos de Receptores Estrogénicos), o los SERM (drogas como tamoxifeno y raloxifeno, utilizadas en tratamientos para cáncer de mama y osteoporosis, actúan como agonistas de ER en algunos tejidos y antagonistas de ER en otros, lo que condujo a su designación como Moduladores Selectivos de Receptores Estrogénicos) activan al GPER intracelular, predominantemente. La activación de GPER estimula la producción de cAMP, la movilización de calcio y de c-Src, activando a las metaloproteinasas de la matriz (MMP). Las MMP clivan el factor de crecimiento epidérmico pro unión a heparina (HB-EGF), liberando HB-EGF que transactiva los EGFR. El EGFR activa las vías MAPK y PI3K/Akt, induciendo efectos rápidos (no genómicos) y efectos que regulan la transcripción genética (genómicos). La regulación de la transcripción mediada por E2 puede implicar la fosforilación (P) de ER u otros TF que interactúan directamente con ER, o unirse independientemente de los ER dentro de los promotores de los genes blanco (Prossnitz ER, 2011).

La señalización a través GPER se produce por transactivación del EGFR y compromete a la familia Src de tirosina quinasas. La estimulación de GPER activa a las metaloproteinasas e induce la liberación de EGF de unión a heparina, el cual se une y activa al EGFR, llevando a la activación a la baja de moléculas de señalización, tales como ERK1 y ERK2. Por otra parte, la activación GPER mediada por 17β-estradiol, estimula la producción de AMPc, la movilización intracelular de calcio y la activación de PI3K (Prossnitz ER, 2011).

El GPER también regula indirectamente la actividad transcripcional, activando los mecanismos de señalización de AMPc, ERK y PI3K. Los genes regulados por GPER incluyen: FOS que codifica c-Fos (Prossnitz ER, 2011).

El GPER induce el avance de los tumores relacionados con estrógenos a través de la vía de señalización de la proteína quinasa activada por

mitógenos (MAPK). Estos efectos mediados por GPER se mantienen cuando los ER clásicos están ausentes o bloqueados. Además, GPER está involucrado en la resistencia a los medicamentos, que a menudo se producen durante el tratamiento del cáncer (Wang D, 2010) (Ignatov A, 2010).

El gráfico 11 muestra al GPER (Cosmic Catalogue of somatic mutations in cancer GPER, 2013).

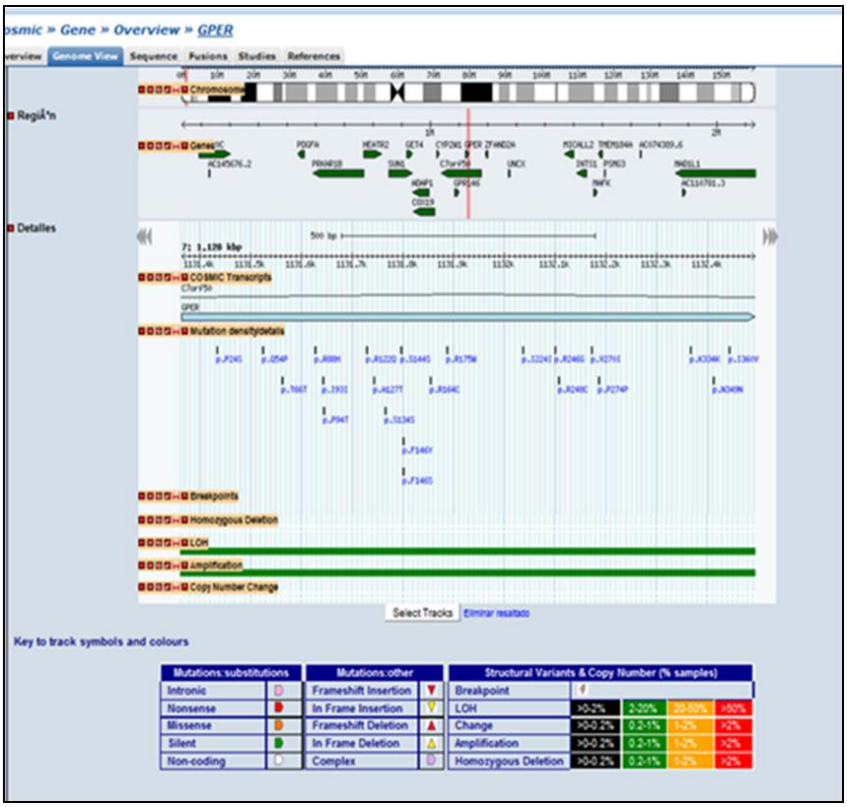


Gráfico 11. GPER (Cosmic GPER, 2013).

GPER es una proteína capaz de responder a estrógenos con uniones del tipo de alta afinidad y baja capacidad, tanto en la membrana plasmática como en el retículo endoplásmico. GPER se expresa en una variedad de tejidos tanto normales como malignos, con niveles altos encontrados en corazón, pulmones, intestino, ovarios y cerebro. Mediante estudios de Inmunohistoquímica se observó que en ratón también se expresa en el tracto reproductor masculino, epitelio y músculo. En la rata se ha

detectado su expresión en cerebro, tejidos embrionarios y fetales, y en placenta. En lo que respecta a tejidos humanos, se ha descrito que el epitelio glandular mamario es positivo para la expresión de GPER, al igual que la mayoría de las regiones del cerebro. Los fibroblastos son generalmente negativos, mientras que el tejido adiposo y el músculo esquelético resultan moderadamente positivos y algunos cánceres de mama primarios y linfomas también lo expresan (Prossnitz ER B. M., 2011).

En células de cáncer de mama negativas para receptores estrogénicos se han demostrado varios efectos generados por la unión de Estrógeno a GPER, como la estimulación de proteínas quinasas, la señalización por calcio, y la transactivación de EGFR. En estudios realizados por Filardo y cols., analizando carcinomas mamarios invasivos e intraductales, se observó que la sobreexpresión de GPER se encontraba asociada al tamaño tumoral (>2 cm), la presencia de metástasis distantes y la sobreexpresión de HER-2/neu50 (Filardo EJ, 2012).

La mayoría de casos de cáncer inflamatorio de mama (IBC), fueron positivos para GPER, e incluso en los casos negativos para ER, la vía de señalización de ER está activa todavía, debido a la presencia y actividad de la vía de señalización GPER (Arias-Pulido 2010). Estos resultados abren nuevos caminos para el tratamiento de IBC con inhibidores de moléculas pequeñas que modulan específicamente la actividad de GPER (Arias-Pulido 2010).

Jala y cols., hicieron análisis de GPER en NSCLC por PCR en tiempo real y Western Blott, mostrando una expresión significativamente mayor de ARNm y de niveles de proteína. El análisis inmunohistoquímico de adenomas pulmonares murinos y de NSCLC (carcinoma escamocelular y adenocarcinoma) humano, mostró mayor expresión de GPER en el tumor con relación al tejido no tumoral adyacente (Jala VR, 2012).

Dada la importancia del GPER en la activación de una vía de señalización pro- supervivencia en las células tumorales, la existencia de inhibidores de moléculas pequeñas como una nueva opción terapéutica, y la falta de

datos sobre la expresión del GPER en los TNE de pulmón, pretendemos determinar la expresión mediante un estudio de inmunoperoxidasa en los bloques de parafina de estos tumores, y determinar la relevancia en la señalización de estrógenos en este tipo de cánceres de pulmón.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La patología respiratoria es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo, afectando al ser humano desde su nacimiento hasta los últimos años de su vida, sin excepción. Dado que los síntomas y signos suelen estar confinados a la presencia de tos y disnea, y que otras ayudas diagnósticas con frecuencia dejan más dudas que certezas, es frecuente que se requiera la intervención del médico patólogo para dar un diagnóstico definitivo en situaciones complejas.

Trátese de una patología inflamatoria o tumoral, siempre se espera que el patólogo de la última palabra; lo cual puede ser difícil, ya sea con un material adecuado o con limitaciones.

Es fundamental que el patólogo trabaje de manera cercana con el resto de profesionales sanitarios implicados en el proceso, formando equipos multidisciplinarios, con el fin primordial de llegar a un diagnóstico certero que guíe el adecuado abordaje terapéutico, mejorando la calidad de vida del ser humano enfermo.

La mayoría de las veces no resulta fácil, incluso es imposible, la colaboración multidiciplinar entre todos los participantes en un proceso de enfermedad.

El cáncer de pulmón (CP) en términos de incidencia, es el cáncer más común con 1.2 millones de casos nuevos o 12.3% del total mundial.

Es el cáncer más letal en el mundo. La diferencia en mortalidad con respecto a otros cánceres también comunes como colon, mama, próstata y cérvix se debe a que el CP se diagnostica más frecuentemente en estado avanzado. El diagnóstico tardío es el obstáculo fundamental en la obtención de una respuesta favorable en los tratamientos del paciente.

En los últimos años se ha visto un incremento progresivo en mujeres, asociado entre otros factores al aumento del hábito del tabaquismo.

El CP está asociado a diferentes factores dentro de los cuales se destacan el tabaquismo, la exposición a algunos metales pesados, a material particulado (asbesto), a radiaciones ionizantes. En casi todos estos factores se ha demostrado una relación directa con el tiempo de exposición y la combinación de varios con la aparición de la patología.

Los CP comparten muchas características clínicas, etiológicas que demuestran una gran influencia de las características poblacionales. Los tumores incluidos bajo el título de CP son carcinomas de célula no pequeña (escamocelular, adenocarcinoma, y de célula grande) y carcinomas de célula pequeña. El último forma parte del espectro de alto grado de los carcinomas neuroendocrinos de pulmón, estando en el otro lado del espectro los carcinomas neuroendocrinos de bajo grado (tumor carcinoide típico) y de grado intermedio (tumor carcinoide atípico), cuya prevalencia ha aumentado notablemente, pasando de ser hace 10 años menos del 2% de los CP, al 17% en la actualidad en Colombia.

Llama la atención la preponderancia en la presentación del carcinoma neuroendocrino de bajo grado y grado intermedio en el género femenino.

La mayoría de los cánceres de pulmón no expresan ninguno de los receptores de estrógeno clásicos, ERa o ERβ. El receptor de estrógeno descrito recientemente, GPR30, no se ha caracterizado en el cáncer de pulmón, por lo tanto queremos determinar la relevancia de GPR30 en la señalización de estrógenos en este tipo de cánceres de pulmón.

Para la realización de este trabajo, nos planteamos los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL:

Determinar las características clínicas y morfológicas de los pacientes diagnosticados con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón en la Fundación Santa Fe de Bogotá (FSFB) (Colombia) durante el periodo 2003 – 2010.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Describir las características demográficas de la población de estudio.
2. Describir las características clínicas de la población de estudio.
3. Estudiar las características paraclínicas en la población de estudio, tanto en sus aspectos morfológicos como inmunohistoquímicos, usando marcadores de diferenciación neuroendocrina, origen pulmonar, marcadores con valor pronóstico y expresión de receptores hormonales.
4. Estimar las características demográficas, clínicas y paraclínicas de la población de estudio, de acuerdo con el tipo de carcinoma neuroendocrino de pulmón presentado.
5. Observar la supervivencia que presente esta población, en el tiempo que tenga seguimiento en el hospital universitario de la FSFB.

MATERIAL Y MÉTODOS

1.- DISEÑO:

Estudio descriptivo tipo Serie de Casos retrospectivo.

2.- LUGAR:

El estudio fue realizado en la Fundación Santa Fe de Bogotá (FSFB); Institución privada de IV nivel ubicado en la localidad de Usaquén, el cual atiende a población del régimen contributivo del Sistema General de Seguridad Social en Salud.

3.- POBLACIÓN:

3.1.- Población blanco:

Pacientes con diagnóstico confirmado de Carcinoma neuroendocrino de pulmón.

3.2.- Población de estudio:

Pacientes con diagnóstico de Carcinoma neuroendocrino de pulmón realizado en la FSFB, cuyas muestras de biopsia hayan sido procesadas y evaluadas entre el periodo comprendido entre los años 2003-2010.

3.3.- Clasificación:

Los casos evaluados en el presente estudio fueron clasificados de acuerdo con el subtipo histopatológico reportado. Se consideraron las siguientes categorías: Tumor Carcinoide Típico (TC), Tumor carcinoide atípico (AC), Carcinoma de Células Pequeñas del Pulmón (SCLC), Carcinoma neuroendocrino de células grandes (CNECG).

3.4.- Tamaño de la muestra:

Debido al diseño, no se consideró la realización de una aproximación estadística para el número de pacientes a seguir. Durante el periodo de 2003 – 2010 se confirmó el diagnóstico de 42 casos.

4.- PROCEDIMIENTO:

4.1.- Selección de las muestras:

Las muestras correspondieron a todos los casos clínicos de carcinoma neuroendocrino de pulmón diagnosticados entre 2003 y 2010 en la Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia), de los cuales se obtuvo las láminas histológicas y los bloques de parafina. De acuerdo con los hallazgos, se realizó la clasificación de cada caso en las categorías arriba mencionadas.

4.2.- Obtención de datos clínicos:

Para la recolección de la información socio-demográfica y clínica de la población estudiada, se realizó la revisión de la historia clínica y las notas quirúrgicas reportadas en la base de pacientes electrónica de la Institución.

4.3.- Realización de MATRICES TISULARES

4.3.1.- Construcción de matrices tisulares: Selección del material – Realización del bloque máster – Corte de las matrices tisulares:

La lectura de las muestras fue realizada por un especialista de más de 15 años de experiencia y entrenamiento especializado en el área de patología pulmonar. En cada caso se seleccionó tanto el tejido tumoral como el normal. Posteriormente, de las áreas seleccionadas se obtuvieron cilindros de tejido de 0,4mm de diámetro, que se incluyeron ordenadamente en forma de matriz en un nuevo bloque de parafina. De cada bloque de parafina, se incluyeron muestras diferentes de los casos y

áreas escogidas, a los cuales se les realizó cortes histológicos de 4µm de espesor para ser utilizados en el estudio de Inmunohistoquímica.

4.3.2.- Método Inmunohistoquímico:

La expresión de los genes para los receptores hormonales GPR30 y de estrógenos fue evaluada por inmunohistoquímica (IHC) usando los anticuerpos monoclonales anti- ER y Anti GPR30 (clon 6F11; Novocastra, Burlingame, CA; Dilución, 1:50), (clon 1A6; Novocastra, Burlingame, CA; Dilución, 1:30). La recuperación antigénica se llevó a cabo con digestión con proteinasa K por 10 min y el anticuerpo primario fue aplicado a una dilución de 1: 400. La expresión de GPER se analizó semi-cuantitativamente multiplicando la intensidad del marcaje por la proporción de células tumorales positivas. La intensidad del marcaje citoplasmático y de membrana fue definido como 0 sin marcaje apreciable; 1 débil; 2 tenue; 3 moderado y fuerte 4. La técnica de inmunohistoquímica es la usada de manera rutinaria en la Institución y la técnica para la evaluación del GPR30 es la reportada por el grupo de la Universidad de Nuevo México, con un protocolo de detección manual, con recuperación del anticuerpo durante 20 min en 10 mM de tampón de citrato (pH 6,0), e incubación con un anticuerpo GPR30 C-terminal (Arias-Pulido H, 2010).

La expresión del receptor de estrógenos se valora como nuclear, cuando está ausente es negativa, se gradúa la cantidad de células reactivas en porcentaje y la intensidad de tinción nuclear de débil a intensa. Puntuación: 0, tinción negativa para todas las células; 1+, débilmente positivo para la tinción nuclear en <10% de las células; 2+, moderada a fuerte tinción positiva que cubre 10-50% de las células; 3+, fuertemente positiva incluyendo > 50% de las células.

La expresión del GPER se valora usando un sistema de puntuación obtenido multiplicando la intensidad de la tinción (0 calificado como negativo; 1 +, débil; 2 +, moderado y 3 +, fuerte) por el porcentaje de células tumorales reactivas con tinción citoplasmática GPR30-positiva (0 a

100%) (Arias-Pulido H, 2010). En la figura 6 se muestra un ejemplo de cada uno de los grados de reactividad para GPER, de acuerdo a la intensidad de la tinción.

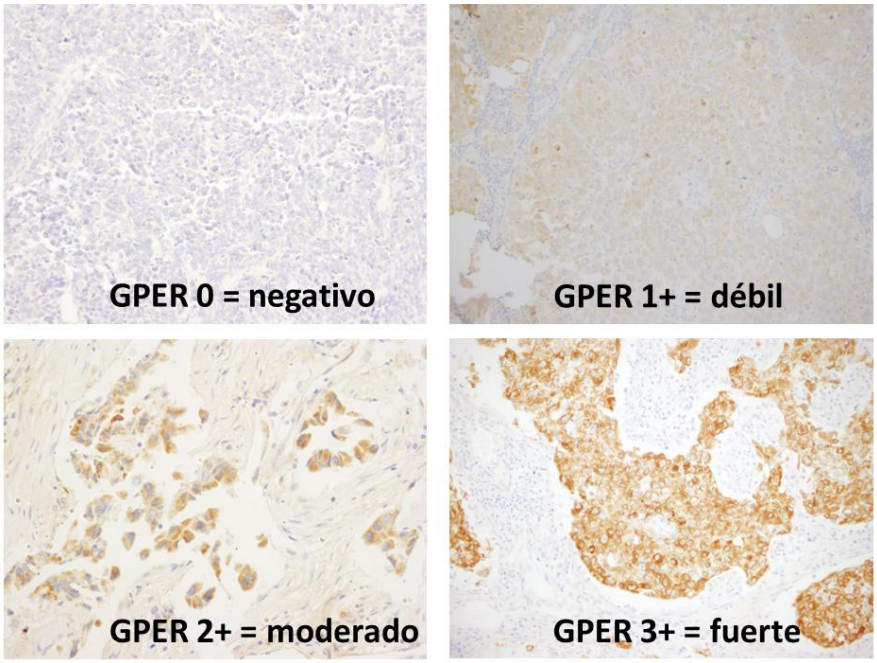


Figura 6. Diferentes grados de reactividad para GPER, de acuerdo a la intensidad de la tinción (0 calificado como negativo; 1+, débil; 2+, moderado y 3+, fuerte).

4.3.3.- Valoración de las muestras:

Las láminas de Hematoxilina – Eosina y las de Inmunohistoquímica fueron revisados de manera independiente por dos patólogos, un especialista con entrenamiento especial en patología pulmonar y más de 15 años de experiencia y un especialista en patología clínica y anatómica con 2 años de experiencia y en entrenamiento especial en patología clínica – laboratorio clínico, revisando el control positivo y negativo, así como el control interno positivo y negativo, en caso de que aplicara. Para la evaluación de los marcadores se asignó un puntaje a cada marcador de

acuerdo con la proporción de células tumorales reactivas: focal <30% de las células reactivas, difusa ≥30% de las células reactivas para el marcador de Inmunohistoquímica. En lo concerniente a la intensidad de la marcación en las células tumorales se empleó como clasificación: 0 negativa, 1 débil con tinción discreta, 2 media, 3 fuerte con tinción fuerte. El puntaje final fue obtenido a partir del promedio de cada uno de los ítems, multiplicado por el porcentaje de células tumorales reactivas. En caso que hubiera discrepancias entre los dos patólogos, se determinó el puntaje final mediante consenso y revisión conjunta del material histológico.

5.-VARIABLES:

Se consideró como variable principal del estudio la presencia de carcinoma neuroendocrino de pulmón, definiendo las categorías de la siguiente manera:

- Tumor Carcinoide Típico (TC)
- Tumor carcinoide atípico (AC)
- Carcinoma de Células Pequeñas del Pulmón (SCLC)
- Carcinoma neuroendocrino de células grandes (CNECG)
-

Para la definición, clasificación y fuente de obtención de las variables relacionadas con los aspectos sociodemográficos, clínicos e histopatológicos, se realizó la tabla 7:

Tabla 7. Variables sociodemográficas, clínicas e histopatológicas

Variables	Definición operativa	Escala de Medición (Naturaleza de la variable)	Fuente de Información	Estratos
Género	Sexo del paciente	Nominal Dicotómica	Historia Clínica	Masculino Femenino

Edad	Edad del paciente en años cumplidos	Discreta	Historia Clínica	Años cumplidos
Trastornos endocrinos asociados.	Presencia y tipo de patología endocrina padecida por el paciente.	Nominal	Historia Clínica	Diagnóstico patología endocrina
Antecedente de Tabaquismo	Presencia del antecedente de consumo de cigarrillo del paciente.	Nominal Dicotómica /Continua de razón	Historia Clínica	Si-No Paquetes-año
Muerte	Fallecimiento del paciente	Nominal Dicotómica	Historia Clínica	SI No
Seguimiento	Tiempo de consulta y estancias hospitalarias en la Institución para tratamiento de su patología.	Discreta	Historia Clínica	Meses
Institución donde se operó al paciente	Institución hospitalaria donde se realizó el tratamiento quirúrgico de la neoplasia.	Nominal Dicotómica	Historia Clínica	Institucional (FSFB) Extra-institucional
Antecedentes de neoplasia previa	Presencia de antecedente de otro tipo de neoplasia.	Nominal	Historia Clínica	Si-No Tipo de neoplasia
Tratamientos médicos recibidos.	Fámarcos recibidos por el paciente.	Nominal	Historia Clínica	Nombre genérico del fármaco
Diagnósticos adicionales	Presencia de otros antecedentes de patología pulmonar.	Nominal	Historia Clínica	Tipo de patología pulmonar encontrada en el informe de Patología.
Procedimiento realizado para obtener el material	Técnica quirúrgica empleada para la toma de la muestra analizada.	Nominal	Nota quirúrgica / Historia Clínica	Biopsia, cuña, lobectomía, etc.
Lugar de presentación	Localización anatómica de la lesión.	Nominal	Nota quirúrgica / Historia	Pulmón, Pleura, Bronquio,

			Clínica Informe Patología	Cavidad Torácica, Mediastino, etc.
Pulmón afectado	Pulmón donde se encontró la lesión	Nominal Dicotómica	Nota quirúrgica / Historia Clínica Informe Patología	Derecho Izquierdo
Ubicación en el pulmón	Lóbulo donde se encontró la lesión	Nominal	Nota quirúrgica / Historia Clínica Informe Patología	Lóbulo superior Lóbulo Medio Lóbulo Inferior
Linfadenectomía	Antecedente de linfadenectomía.	Nominal Dicotómica	Nota quirúrgica / Historia Clínica Informe Patología	Si No
Estado Clínico	Clasificación de la patología neoplásica del paciente.	Ordinal	Historia Clínica Informe Patología	Carcinoma Oculto 0 I A I B II A II B III A III B IV
Clasificación TNM	Clasificación del paciente según Estado del tumor (T), del compromiso ganglionar (N) y la presencia de metástasis (M).	Ordinal	Historia Clínica Informe Patología	T:0-X-IS-1-2-3-4 T1: T1a - T1b T2: T2a - T2b N: X- 0- 1-2-3 M: X- 0-1 M1: M1a-M1b

Tamaño tumoral	Volumen de la lesión tumoral.	Continua de razón	Informe Patología	milímetros cúbicos (mm3)
Otros tumores	Presencia de otros tumores en el paciente.	Nominal	Historia Clínica Informe Patología	Tipo de tumor
Tumores múltiples	Presencia de más de un tumor.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
Ganglios linfáticos	Presencia de ganglios linfáticos con metástasis.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
Metástasis	Documentación de la presencia de metástasis.	Nominal Dicotómica	Informe Patología Historia Clínica	Si No
Lugar de Metástasis	Lugar anatómico de las metástasis reportadas.	Nominal	Historia Clínica Informe Patología	Nombre estructura anatómica afectada.
Necrosis de la muestra	Presencia de algún tipo de necrosis en la muestra entregada para análisis histopatológico.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
Márgenes de sección	Presencia o ausencia de malignidad en los bordes de la muestra tomada.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Positivos Negativos
Diagnósticos adicionales realizados a los especímenes quirúrgicos	Diagnósticos de patología realizados en la muestra enviada a análisis.	Nominal	Informe Patología	Tipo de patología pulmonar hallada.
Diagnóstico del segundo lugar de la biopsia	Lugar y tipo de diagnóstico realizado a partir del segundo lugar de la biopsia.	Nominal	Informe Patología Historia Clínica	Lugar anatómico. Diagnóstico Realizado.
Cromogranina	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No

	Cromogranina. Reactividad focal <30%, difusa ≥30% de las células. Intensidad de la marcación débil intensa			
Sinaptofisina	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador Sinaptofisina. Reactividad focal <30%, difusa ≥30% de las células. Intensidad de la marcación débil intensa.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
KI67	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador KI67. En cuántos núcleos tumorales %.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
Mitosis 10 CAP	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador Mitosis 10 CAP. Cuántas mitosis en 10 CAP	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
TTFI	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador TTFI. Reactividad focal <30%, difusa ≥30% de las células. Intensidad de la marcación débil intensa.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No

CKAE1/AE3	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CKAE1/AE3.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CK7	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CK7.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CAM5.2	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CAM5.2.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CEAP	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CEAP.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CD56	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CD56.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CK5/6	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CK5/6.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
CK20	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador CK20.	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
RP	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador RP. Cuántas células reactivas en %	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No
GPR30	Presencia de resultado positivo/negativo al marcador GPR30. Intensidad de la marcación 0 negativa 1 débil 2 media 3	Nominal Dicotómica	Informe Patología	Si No

	fuerte			

6.- MANEJO DE DATOS Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

6.1.- Recolección de datos – Verificación de la calidad de la información:

La recolección de la información se hizo en una hoja de cálculo de Microsoft Office Excel. Una vez digitada toda la información, se realizó la verificación de la calidad de la información por método manual y nueva revisión de las fuentes de información.

6.2.- Análisis:

Se realizó un análisis descriptivo de la información según la naturaleza de la variable a estudiar. Para variables cualitativas nominales y ordinales se emplearon frecuencias absolutas y relativas, para variables cuantitativas se estimaron medidas de resumen tipo media y mediana y de dispersión tipo desviación estándar, y rango.

Con el propósito de formular nuevas hipótesis para ulteriores estudios, se realizó un análisis bivariado simple catalogando como variable dependiente el subtipo de carcinoma neuroendocrino. Para dicho análisis, se reagrupó la variable principal en categorías de relevancia clínica y, de acuerdo con los valores esperados, el tamaño muestral y la reclasificación de las categorías, se realizó el análisis de tablas a través de la prueba exacta de Fisher.

Para la realización del análisis estadístico de la información, se empleó el programa Epidat ®, versiones 3.1 y 4.0 (Xunta de Galicia, Conselleria de Sanidade – Organización Panamericana de la Salud).

7.- CONSIDERACIONES ÉTICAS

7.1.- Normativa nacional:

De acuerdo con lo estipulado por la resolución 8430 de 1993, se consideró este estudio como Sin Riesgo, bajo la consideración que la información fue recogida y analizada a partir de historias clínicas. En los aspectos relacionados con la toma de las muestras para el análisis patológico, se realizaron dentro de los protocolos internacionales recomendados para el diagnóstico y tratamiento de este tipo de enfermedades y, en lo concerniente a las pruebas de inmunofenotipificación realizadas en el estudio, no se requirió la realización de intervenciones adicionales ni segundas muestras. Dadas estas circunstancias, no se solicitó consentimiento informado a los pacientes.

7.2.- Comité de Ética y aprobaciones institucionales:

Este estudio contó con el aval del Departamento de Patología y Laboratorios de La FSFB y las muestras analizadas hacían parte del estudio (Estudio de metilación de cáncer de pulmón), el cual contó con la aprobación del Comité de Ética de la FSFB.

7.3.- Declaración de conflictos de interés:

Ninguno declarado por la investigadora principal o por el personal participante en el diseño, conducción o análisis del presente estudio.

RESULTADOS

1.- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

Entre los años 2003 y 2010 se recogieron en la institución 42 casos de tejido pulmonar con carcinomas neuroendocrinos de pulmón: 21 casos con TC (50%), 3 casos de AC (7,14%) y 18 casos con carcinoma de célula pequeña (42,86%). No fueron informados casos de carcinoma neuroendocrino de célula grande. La información de los 42 casos se presenta en la tabla 8.

Adicionalmente, se informaron dos casos de tumorcillos carcinoides, en mujeres de 61 y 77 años; los tumorcillos eran bien diferenciados, con diámetros de 1,4 y 2,0 mm y con 100% de reactividad para cromogranina y sinaptofisina.

Tabla 8. Informe de 42 pacientes con Carcinoma Neuroendocrino Pulmonar

VARIABLE	N =42 (%)	IC 95%
Género		
Masculino	25 (59,52)	25,63 – 56,72
Femenino	17 (40,48)	
Edad		
Mediana (rango)	63 (11 – 82)	
Trastornos endocrinos asociados:		
Diabetes	1 (2,38)	0,06 – 12,57
Hipertensión	6 (14,29)	5,43 – 28,54
Asma	2 (4,76)	0,58 – 16,16
Antecedente de Tabaquismo		
Sí	14 (33,33)	19,57 – 49,55
Consumo paquetes año		
mediana (rango)	50 (0,3 – 106)	
Muerte	5 (11,90)	3,98 – 25,63
Seguimiento (n=17)		
En meses. Mediana (rango)	16 (1-75)	
Institución donde se operó al paciente:		
FSFB	28 (66,67)	
Otra	14 (33,33)	19,57 – 49,55
Antecedente de neoplasia previa	9 (21,43)	10,30 – 36,81

Método de extracción de las muestras evaluadas		
Biopsia	19 (45,24)	29,85 – 61,33
Cuña - Resección	10 (23,81)	12,05 – 39,45
Lobectomía	12 (28,57)	15,72 – 44,58
Neumonectomía	1 (2,38)	
Procedimiento realizado para obtener el material		
Parafina	15 (35,71)	19,57 – 49,55
Formol	27 (64,29)	48,03 – 78,45
Lugar de presentación		
Pulmón	37 (88,10)	74,37 – 96,02
Otros lugares	1 (2,38)	
No especificado	4 (9,52)	
Pulmón afectado (n=37)		
Derecho	17 (45,95)	29,49 – 63,08
Izquierdo	11 (29,78)	15,87 – 46,97
Ambos	1 (2,70)	
No especificado – No aplica	8 (21,62)	
Ubicación en el pulmón (n=37)		
Superior	17 (40,48)	29,49 – 63,08
Medio	4 (9,52)	3,02 – 25,42
Inferior	5 (11,9)	4,53 – 28,77
Superior y Medio	2 (4,76)	0,66 – 18,19
Medio e Inferior	1 (2,38)	0,07 – 14,16
No aplica	1 (4,76)	
No especificado	7 (26,19)	
Linfadenectomía		
No	27 (64,29)	
Si	15 (35,71)	21,55 – 51,97
Tamaño tumoral		
Mediana (rango) en cm	1,5 (0,14 – 5)	
0,51 – 2	13 (29,55)	
2,1 – 4,9	4 (9,09)	
≥ 5cm	2 (4,55)	
No especificado	23 (52,27)	
Tumores múltiples		
Lóbulos comprometidos (n=33):		
1	29 (87,88)	52,91 – 82,38
2	4 (12,12)	

Pacientes con Ganglios linfáticos positivos (n=16)		
Si	3 (25)	
No	13 (75)	7,27 – 52,38
Número de ganglios positivos (n=5)		
1	1 (25)	
2	2 (50)	
Metástasis		
No	5 (11,9)	
Si	5 (11,9)	3,98 – 25,63
No especificado	32 (76,19)	
Márgenes de sección		
Positivos	3 (7,14)	1,50 – 19,48
Negativos	18 (42,86)	
No aplica	21 (50,00)	
Diagnósticos adicionales realizados a los especímenes quirúrgicos (n=17)		
Patología pulmonar no asociada a neoplasias	9 (52,94)	
Patología pulmonar asociada a neoplasias	8 (47,06)	
Diagnóstico del segundo lugar de la biopsia Segunda biopsia tomada		
No	35 (83,33)	
Si	7 (16,67)	
Lugar Segunda Biopsia (n=7)		
Ganglios	4 (57,14)	6,97 – 31,36
Mediastino	1 (14,29)	
Pleura	1 (14,29)	
Pulmón	1 (14,29)	
Cromogranina		
Negativa	5 (12,2)	
Positiva	36 (87,8)	71,46 – 94,57
Sinaptofisina		
Negativa	1 (2,38)	
Positiva	31 (73,81)	57,96 – 86,14
No realizado	10 (23,81)	
Cromogranina o sinaptofisina positivas	40 (95,23)	83,84 – 99,42
KI67		
Mediana (rango) en % (n=36)	5 (1-90)	
Mitosis 10 CAP		
Negativas - Hasta menos de 2x10 CAP	23 (54,76)	38,67 – 70,15
3-10 x10 CAP	2(4,76)	0,6 – 16,16
Frecuentes – Más de 10 x10 CAP	17 (40,48)	25,62 – 56,71

TTFI		
Negativa	5 (11,90)	
Positiva	30 (71,43)	55,42 – 84,28
No realizado	7 (16,67)	
CK7		
Negativa	7 (16,67)	
Positiva	8 (19,05)	
No realizado	27 (64,29)	
CEAP		
Negativa	2 (4,76)	
Positiva	3 (7,14)	
No realizado	37 (88,10)	
CK20		
Negativa	11 (26,19)	
Positiva	0	
No realizado	31 (73,81)	
RP		
Negativa	1 (2,38)	
Positiva	0	
No realizado	41 (97,62)	
GPR30 (n=16)		
0	1 (6,25)	
<2 (Débil)	12 (75)	47,62 – 92,73
No tumor en el tejido residual	3 (18,75)	
RE (n=16)		
0	14 (87,5)	
No tumor en el tejido residual	2 (12,5)	

En el grupo de casos evaluados no se encontraron antecedentes de patología endocrina tipo Cushing ni acromegalia. Un paciente tuvo antecedentes familiares, en grado 1 y 2 de consanguinidad así: madre con cáncer de colon y hermana con cáncer de páncreas.

En lo concerniente a otros antecedentes, en los exposicionales se encontró en dos personas la exposición al humo de leña en la infancia y adolescencia; en los antecedentes patológicos, se encontraron siete pacientes con hipertensión arterial, dos pacientes con diabetes mellitus en tratamiento, y dos pacientes con asma en manejo.

En los antecedentes farmacológicos, la tabla 9 muestra la relación de la frecuencia de medicamentos prescritos en los pacientes evaluados.

Tabla 9. Medicamentos usados en los pacientes evaluados

En más de tres pacientes	En tres pacientes	En dos pacientes	En un paciente
Morfina en 5, Acetaminofén en 4	Levotiroxina, Metoclopramida, Omeprazol, Salbutamol	Amlodipino Bupivacaína Enalapril Eutirox Flexotide Hidroclorotiazida Medrol Norvas Omega 3 Winadeine F	Acetato de Megestrol, Acupril, Adalat Oros, Alpralozam, Amiodarona, ASA, Atorvastatina, Beclometasona, Berudal, Bisacodilo, Budesonida, Bupivacaina, Caltrate, Carboximetil, Cefazolina, Cetirizina, Cisteína, Clonidina, Codeína, Disgrasil, Dopamina, Dostinex, Gliformin, Hipolipemiante, Hizzar, Ibersartan, Insulina, Lantadina, Losartan, Lovastatina, Micardis, Montelukast, Naloxona, Oracea, Pancreoflat, Ranitidina, Spiriva, Tegaserod, Tiroxin, Tramadol, Vacunas

En la Tabla 10 se encuentran los resultados del análisis descriptivo de las variables por tipo de tumor.

Tabla 10. Análisis descriptivo de los carcinomas neuroendocrinos de pulmón

VARIABLE	N (%)		
	Tumor carcinoide típico (n=21)	**Tumor carcinoide atípico (n=3)**	**Carcinoma de célula pequeña (n=18)**
Género			
Masculino	5 (23,81)	0 (0)	6 (33,33)
Femenino	16 (76,19)	3 (100)	12 (66,67)
Edad			
mediana (rango)	62 (11–73)	54 (46–68)	67,5 (44-82)
Trastornos endocrinos asociados			
Diabetes	1	-	-
Hipertensión	4	1	1
Asma	2	-	-
Antecedente de Tabaquismo			
Si	7 (33,33)	1 (33,33)	6 (33,33)
Consumo paquetes año			
mediana (rango)	31 (0,3–106)	22	55 (40-90)
Muerte			
Si	1 (4,76)	-	4 (22,22)
No o Sin dato	20 (95,24)	3 (100)	14 (77,78)
Seguimiento (n=17)	n=11	n=2	n=4
En meses, Mediana (rango)	22 (7–75)	33 (26–40)	7,5 (1-14)
Institución donde se operó al paciente			
FSFB	17 (80,95)	1 (33,33)	8 (44,44)
Otra	4 (19,05)	2 (66,67)	10 (55,56)
Antecedentes de neoplasia previa	6 (28,57)	2 (66,67)	-

Método de extracción de las muestras evaluadas			
Biopsia	3 (14,29)	-	16 (88,89)
Cuña - Resección	9 (42,86)	-	1 (5,56)
Lobectomía	8 (38,1)	3 (100)	1 (5,56)
Neumonectomía	1 (4,76)	-	-
Procedimiento realizado para obtener el material			
Parafina	4 (19,05)	1 (33,33)	10 (55,56)
Formol	17 (80,95)	2 (66,67)	8 (44,44)
Lugar de presentación			
Pulmón	20 (95,24)	3 (100)	14 (77,78)
Otros lugares	1 (4,76)	-	4 (22,22)
Pulmón afectado (n=37)	n=20	n=3	n=14
Derecho	10 (52,63)	2 (66,67)	5 (50)
Izquierdo	5 (26,32)	1 (33,33)	5 (50)
Ambos	1 (5,26)	-	4 (28,57)
No especificado	4 (20,00)		
Ubicación en el pulmón (n=37)	n=20	n=3	n=14
Superior	10 (52,63)	1 (33,33)	6 (60)
Medio	4 (21,05)	-	-
Inferior	2 (10,53)	2 (66,67)	1 (10)
Superior y Medio	1 (5,26)	-	1 (10)
Medio e Inferior	1 (5,26)	-	-
No aplica	1 (5,26)	-	-
No especificado	1 (5,26)	-	6 (20)
Linfadenectomía			
No	4 (19,05)	-	16 (88,89)
Si	11 (52,38)	3 (100)	2 (11,11)
No especificado	6 (28,57)	-	
Metástasis a Ganglios (n=15)	n=11	n=3	n=1
Si	1 (9,1)	1 (33,3)	1 (100)
No	10 (90,9)	2 (66,7)	0

Tamaño tumoral			
Mediana (rango) en cm	1,5 (0,6–4,5)	5 (2–5)	1
0,51–2	11 (52,38)	1 (33,33)	1 (5,56)
2,1–4,9	4 (19,05)	-	-
≥ 5cm	-	2 (66,67)	-
No especificado	6 (28,57)	-	17 (94,44)
Tumores múltiples			
Lóbulos comprometidos (n=32)	n=19	n= 3	n= 10
1	16 (84,21)	3 (100)	9 (90)
2	3 (15,79)	-	1 (10)
Pacientes con Ganglios linfáticos positivos (n=15)	n=11	n=3	n=1
No	10 (90,91)	2 (66,67)	
Si	1 (9,09)	1 (33,33)	1 (100)
Metástasis			
No	5 (23,81)	-	-
Si	-	-	5 (27,78)
No especificado	16 (76,19)	3 (100)	13 (72,22)
Necrosis de la muestra			
Si	1 (4,76)	3 (100)	18 (100)
No	20 (95,24)		
Márgenes de sección			
Positivos	3 (14,29)	0 (0)	-
Negativos	13 (61,9)	3 (100)	2 (11,11)
No especificado	5 (23,81)	-	16 (88,89)
Diagnósticos adicionales realizados a los especímenes quirúrgicos (n=17)	n= 13	n=2	n=2
Patología pulmonar no asociada a neoplasias	8 (61,54)	1 (50)	
Patología pulmonar asociada a neoplasias	5 (38,46)	1 (50)	2 (100)

Diagnóstico del segundo Lugar de biopsia Segunda biopsia tomada			
No	17 (80,95)	1 (33,33)	17 (94,44)
Si	4 (19,05)	2 (66,67)	1 (5,56)
Lugar Segunda Biopsia (n=7)			
Ganglios	2 (50)	2 (100)	-
Mediastino	1 (25)	-	-
Pleura	-	-	1 (100)
Pulmón	1 (50)	-	-
Cromogranina			
Negativa	0 (0)	-	5 (27,78)
Positiva	21 (100)	2 (66,67)	13 (72,22)
No realizado		1 (33,33)	
Sinaptofisina			
Negativa	-	-	1 (5,56)
Positiva	14 (66,67)	2 (66,67)	15 (83,33)
No realizado	7 (33,33)	1 (33,33)	2 (11,11)
Cromogranina o sinaptofisina positivas	21 (100)	3 (100)	16 (88,89)
KI67			
Mediana (rango) en %	2 (1–5)	6 (3–10)	80 (50–90)
≤10%	20 (95,45)	3 (100)	0 (0)
>10%	0 (0)	0 (0)	13 (72,22)
No realizado	1 (4,55)	-	5 (27,78)
Mitosis 10 CAP			
Negativas - Hasta menos de 2x10 CAP	21 (100)	3 (100)	1 (5,56)
2-10 x 10 CAP			17 (94,44)
>10 x 10 CAP			
TTFI	n=18	n=1	n=16
Negativa	5 (27,78)	0 (0)	0 (0)
Positiva	13 (72,22)	1 (100)	16 (100)
No realizado casos	3	2	2
CK7	n=6	n=0	n=9
Negativa	4 (66,67)		3 (33,33)
Positiva	2 (33,33)		6 (66,67)
No realizado casos	15	3	9

CEAP	n=3	n=0	n=2
Negativa	1 (33,33)	-	1 (50)
Positiva	2 (66,67)	-	1 (50)
No realizado casos	18	3	16
CK20	n=6	n=0	n=5
Negativa	6 (100)	-	5 (100)
Positiva	0 (0)	-	0 (0)
No realizado casos	15	3	13
RP			
Negativa	1 (4,76)	-	-
Positiva		-	-
No realizado	20 (95,24)	3 (100)	18 (100)
GPR30 (n=16)	n=10	n=1	n=5
Negativo			1 (20)
Positivo	9 (90)	1 (100)	2 (40)
No hay tumor en el tejido residual	1 (10)		2 (40)
RE (n=16)	n=10	n=1	n=5
Negativo	9 (90)	1 (100)	4 (80)
No hay tumor en el tejido residual	1 (10)		1 (20)

En el grupo de casos con TC no se presentó ningún caso con necrosis ni con metástasis a otro lugar. Ningún caso falleció como consecuencia del carcinoma. Una paciente falleció a los 16 meses de seguimiento, por enfermedad sistémica metastásica de adenocarcinoma de esófago y cáncer de mama, el cuál fue diagnosticado 30 años antes. Cinco pacientes (23,8%) presentaron tumores en más de un lugar: Una, presentó Carcinoma de Células Renales 18 años antes, otra paciente presentó Fibroadenoma de mama, otra paciente Adenocarcinoma de Esófago y Cáncer de mama 30 años antes, un caso con tres Resecciones de Nódulos Pulmonares y un caso con resección de nódulo pulmonar derecho dos años antes (ver Tabla 11 para distribución de las metástasis). Adicionalmente, se reportó un caso con carcinoide típico

recidivante con antecedente de resección de tumor carcinoide del bronquio 6 años antes.

En el grupo de casos con AC no se presentó metástasis a otro lugar, ni casos de mortalidad asociada a la patología pulmonar; se encontró un caso con quiste benigno de hígado y durante el seguimiento uno de los pacientes presentó carcinoma de células renales y se documentó mutación MEN 1.

En el grupo de casos con SCLC, todos presentaron necrosis, cinco pacientes (11,9%) presentaron metástasis a otro lugar, los lugares de presentación se encuentran en la tabla 11. Cuatro (4) pacientes murieron como consecuencia de la enfermedad a los 3, 12, 12 y 14 meses después del diagnóstico, con una frecuencia relativa del 22,22%. Como patología neoplásica asociada, dos casos se presentaron con Carcinoma Escamocelular, uno diagnosticado 6 años antes y otro concomitante con el diagnóstico de SCLC.

Tabla 11. Lugar de Presentación de las Metástasis en pacientes con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón

Metástasis	Número de Pacientes	Porcentaje
Hígado	2	25,0%
Pleura	2	25,0%
Mediastino	2	25,0%
Pericardio	1	12,5%
Reja costal	1	12,5%
Total	8	100,0%

La Tabla 12 muestra la distribución de los carcinomas neuroendocrinos, de acuerdo con el estado tumoral:

Tabla 12. Distribución de los Carcinomas Neuroendocrinos de pulmón según el Estado Tumoral

Estado	Tumorcillo Carcinoide	Tumor Carcinoide Típico	Tumor Carcinoide Atípico	Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas
Ia	2	11		
Ib		3	1	
IIa		1	2	
IIb				
T3N0M0				
IIIa		1		
IIIb				
X		5		18
N0	2	20	2	
N1				2
N2		1	1	
N3				
M0	2	21	3	
M1				4
M1a				
M1b				

Como diagnósticos adicionales se encontraron los siguientes: Antracosis (29,4%), Cambios por Obstrucción (26,5%), Bronquiectasias (8,8%), EPOC (8,8%), Carcinoma Neuroendocrino de Bajo Grado (5,9%),

Múltiples Tumorcillos Peribronquiales (5,9%), Carcinoma Escamocelular / Carcinoma In Situ (5,9%), Adenocarcinoma Metastásico de Mama (2,9%), Neumonía Intersticial Usual (2,9%), Bronconeumonía (2,9%).

Se tomó biopsia en Segundo lugar a tres pacientes: una en Mediastino, otra en Pleura y una segunda muestra de Pulmón. Como resultados de dichas biopsias se encontraron: en la biopsia de mediastino, restos tímicos; en la biopsia de pleura, SCLC; y en la segunda muestra de pulmón, TC.

La Tabla 13 muestra los porcentajes de reactividad de los estudios de inmunofenotipo realizados en los carcinomas neuroendocrinos pulmonares, incluidos TC, AC y SCLC.

Tabla 13. Reactividad de los marcadores de inmunohistoquímica en el espectro de tumores neuroendocrinos de pulmón

MARCADOR	POSITIVA	NEGATIVA	NO SE HIZO	% REACTIVIDAD
Cromogranina	36	4	2	90,0%
Sinaptofisina	31	1	10	96,9%
TTFI	30	5	7	85,7%
CKAE1/AE3	10	1	31	90,9%
CK7	8	7	27	53,3%
CAM5.2	4	0	38	100,0%
CEAP	3	2	37	60,0%
CD56	3	0	39	100,0%
CK5/6	1	1	40	50,0%
CK20	0	11	31	0,0%
RP	0	1	41	0,0%
Ki67	37	0	5	100,0%

En lo concerniente a los ganglios linfáticos, el 3,7% (5/135) de los ganglios linfáticos disecados tenían compromiso tumoral, uno de ellos con metástasis en tránsito de 0,2 mm correspondiente a SCLC. A las 3

pacientes con AC se les hizo vaciamiento ganglionar, una de ellas (33,3%) tenía compromiso ganglionar metastásico, el 6,7% de los ganglios linfáticos revisados tenía compromiso tumoral metastásico (2/30). En la Tabla 14 se encuentra la información sobre el número de ganglios linfáticos extraídos y su positividad y distribución por tipo de neoplasia neuroendocrina.

Tabla 14. Ganglios Linfáticos resecados en pacientes con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón

Ganglios Linfáticos	TC	AC	SCLC	Total
Total ganglios linfáticos resecados	87	30	18	135
Ganglios linfáticos con metastasis	2	2	1	5
Porcentaje de ganglios linfáticos con metástasis	2,3%	6,7%	5,6%	3,7%

2.- ANÁLISIS BIVARIADO

La Tabla 15 presenta un análisis exploratorio bivariado sobre la comparación de los factores sociodemográficos, histopatológicos y de inmunofenotipo para cada tipo de carcinoma neuroendocrino. Considerando que las diferencias histológicas son menores entre el TC y AC, estos casos fueron agrupados para la realización del análisis bivariado. Debido al número de casos y su distribución, se empleó en las variables nominales como prueba estadística la prueba exacta de Fisher, y por la distribución no paramétrica de las variables cuantitativas, se empleó la prueba de Mann-Whitney para medianas independientes.

Tabla 15. Análisis bivariado de los carcinomas neuroendocrinos pulmonares: TC/AC versus SCLC

VARIABLE	TC/AC (n=24)	SCLC (n=18)	P (Prueba Exacta de Fisher–P, de Mann Whitney para medianas)
Género			
Femenino	19 (79,17)	6 (33,33)	**0,004**
Masculino	5 (20,83)	12 (66,67)	
Edad mediana (rango)	60,5 (11-69)	67,5 (44-82)	**0,0073**
Trastornos endocrinos asociados			
Diabetes	1	-	
Hipertensión	5	1	
Asma	2	-	
Antecedente de Tabaquismo			
No	9 (37,5)	1 (5,56)	
Si	8 (33,33)	6 (33,33)	**0,0390**
Consumo paquetes año			
mediana (rango)	22 (0,3–106)	55 (40-90)	0,3893
Muerte			
Si	1 (4,17)	4 (22,22)	0,146
No	23 (95,83)	14 (77,78)	
Seguimiento (n=17) Supervivencia en meses, Mediana (rango)	n=13 26 (7-75)	n=4 7,5 (1-14)	**0,0234**
Institución donde se operó al paciente			
FSFB	20 (83,33)	8 (44,44)	**0,019**
Otra	4 (16,67)	10 (55,56)	
Antecedente de neoplasia previa	8	2 (11,11)	0,147
Método de extracción de las muestras evaluadas			
Biopsia	3 (12,5)	16 (88,89)	**0,000**
Cuña - Resección	9 (37,5)	1 (5,56)	
Lobectomía	11 (45,83)	1 (5,56)	

Neumectomía	1 (4,17)		
Procedimiento realizado para obtener el material			
Parafina	5 (20,83)	9 (55,56)	**0,031**
Formol	19 (79,17)	8 (44,44)	
Lugar de presentación			
Pulmón	23 (95,83)	10 (55,56)	**0,027**
Otros lugares	1 (4,17)	-	
Pulmón afectado			
Derecho	12 (54,55)	5 (50)	
Izquierdo	6 (27,27)	5 (50)	0,653
Ambos	1 (4,55)		
No especificado	3 (13,64)		
Ubicación en el pulmón (n=37)	n=22	n=10	
Superior	11 (50)	6 (60)	
Medio	4 (18,18)	-	
Inferior	4 (18,18)	1 (10)	0,049
Superior y Medio	1 (4,55)	1 (10)	
Medio e Inferior	1 (4,55)	-	
No especificado	1 (4,55)	2 (20)	
Linfadenectomía			
No	4 (16,67)	16 (88,89)	**0,000**
Si	14 (58,33)	2 (11,11)	
No especificado	6 (25)		
Tamaño tumoral			
Mediana (rango) en cm	1,55 (0,6–5)	1	
0,51–2	12 (50)	1 (5,56)	
2,1–4,9	4 (16,67)		**0,000**
≥ 5cm	2 (8,33)		
No especificado	6 (25)	17 (94,44)	
Tumores múltiples			
Lóbulos comprometidos (n=32):	n=22	n= 10	
1	19 (86,36)	9 (90)	
2	3 (13,64)	1 (10)	
Pacientes con Ganglios linfáticos positivos (n=15)	n= 14	n=1	
No	12 (85,71)	1 (100)	0,200
Si	2 (14,29)		
Metástasis			
No	5 (20,83)	-	
Si	19 (79,17)	5 (27,78)	**0,003**

No especificado		13 (72,22)	
Necrosis de la muestra			
Si	3 (12,5)	18 (100)	**0,000**
No	21 (87,5)	0 (0)	
Márgenes de sección			
Positivos	3 (12,50)	-	
Negativos	16 (66,67)	2 (11,11)	**0,000**
No consta	5 (20,83)	16 (88,89)	
Diagnósticos adicionales realizados a los especímenes quirúrgicos (n=17)	n=15	n=2	
Patología pulmonar no asociada a neoplasias	9 (60)	2 (100)	0,437
Patología pulmonar asociada a neoplasias	6 (40)		
Diagnóstico del segundo lugar de biopsia			
Segunda biopsia tomada			
No	18 (75)	17 (94,44)	0,103
Si	6 (25)	1 (5,56)	
Lugar Segunda Biopsia (n=3)			
Mediastino	1 (16,67)	-	0,429
Pleura	-	1 (100)	
Pulmón	1 (16,67)	-	
Cromogranina			
Negativa		5 (27,78)	
Positiva	23 (95,83)	13 (72,22)	**0,01**
No realizado	1 (4,17)		
Sinaptofisina			
Negativa		1 (5,56)	
Positiva	16 (66,67)	15 (83,33)	0,147
No realizado	8 (33,33)	2 (11,11)	
Cromogranina o sinaptofisina positivas	24 (100)	16 (88,89)	0,178
KI67			
Mediana (rango) en % (n=38)	2 (1–10)	80 (50–90)	
≤10%	23		**0,000**
>10%		13 (72,22)	
No realizado	1	5 (27,78)	

Mitosis 10 CAP			
Negativas - Hasta menos de 2x10 CAP	23 (95,83)		
2-10 x 10 CAP		0	**0,000**
>10 x 10 CAP	1 (4,17)	1 (5,56)	
	0	17 (94,44)	
TTFI			
Negativa	5 (20,83)		
Positiva	14 (58,33)	16 (88,89)	0,063
No realizado	5 (20,83)	2 (11,11)	
CK7			
Negativa	4 (16,67)	3 (16,67)	
Positiva	2 (8,33)	6 (33,33)	0,106
No realizado	18 (75)	9 (50)	
CEAP			
Negativa	1 (4,17)	1 (5,56)	
Positiva	2 (8,33)	1 (5,56)	1,000
No realizado	21 (87,5)	16 (88,89)	
CK20			
Negativa	6 (25)	5 (27,78)	
Positiva	-	-	1,000
No realizado	18 (75)	13 (72,22)	
RP			
Negativa	1 (4,17)	-	
Positiva	-	-	1,000
No realizado	23 (95,83)	18 (100)	
GPR30 (n=16)	n=11	n=5	
Negativo	-	1 (20)	
<2 (Débil)	10 (90,91)	2 (40)	0,063
No tejido o no tumor	1 (9,09)	2 (40)	
RE (n=16)	n=19	n=5	
Negativo	10 (90,91)	4 (80)	1
No tejido o no tumor	1 (9,09)	1 (20)	

3.- RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES ESTUDIADAS

La Tabla 16 muestra los 13 pacientes en los que se obtuvo resultado después de realizar el estudio de GPER/GPR30, con las características de género, edad, reactividad para TTF-1, diagnóstico microscópico y las particularidades únicas; todos los casos fueron negativos para RE.

Tabla 16. Características clínicas asociadas a la expresión de GPR30 en las células tumorales de los Carcinomas Neuroendocrinos Pulmonares

Género	Edad	GPER	TTF1	RE	Carcinoma Neuroendocrino	Observaciones
M	68	0	+	0	SCLC	
F	66	30	+	0	SCLC	
M	62	60	0	0	TC	
M	69	80	0	0	TC	Recidivante
M	82	90	+	0	SCLC	
F	53	90	+	0	TC	Sincrónico
F	59	90	+	0	TC	Sincrónico
F	70	100	+	0	TC	
F	46	120	+	0	AC	
F	66	160	+	0	TC	
F	35	180	+	0	TC	
F	53	180	+	0	TC	Metastásico a ganglios
F	72	200	+	0	TC	

La tabla 17 muestra el análisis bivariado respectivo. Para hacer el análisis bivariado se tomó el punto de corte en 99 como negativo. GPER tiene mediana, (rango intercuartílico): 90 (80 -160). Negativo (0 – 99): 7 (53,85%) (IC95% 26,23% - 87,84%) y Positivo (≥100): 6 (46,15%) (IC95% 0 – 70,76%).

Tabla 17. Análisis bivariado de la expresión de GPR30 en los carcinomas neuroendocrinos pulmonares

VARIABLE	GPR30-	GPR30+	P*
Género Masculino	4 (57,14)	0	
Género Femenino	3 (42,86)	6 (100)	0,070
Edad mediana (rango)	66 (53 – 82)	59,5 (35 – 72)	0,4738
TTF-1 Negativa	2 (28,57)	0 (0)	0,462
TTF-1 Positiva	5 (71,43)	6 (100)	
TC	4 (57,14)	6 (100)	0,192
SCLC	3 (42,86)	0 (0)	

P (Prueba Exacta de Fisher–P, de Mann Whitney para medianas)

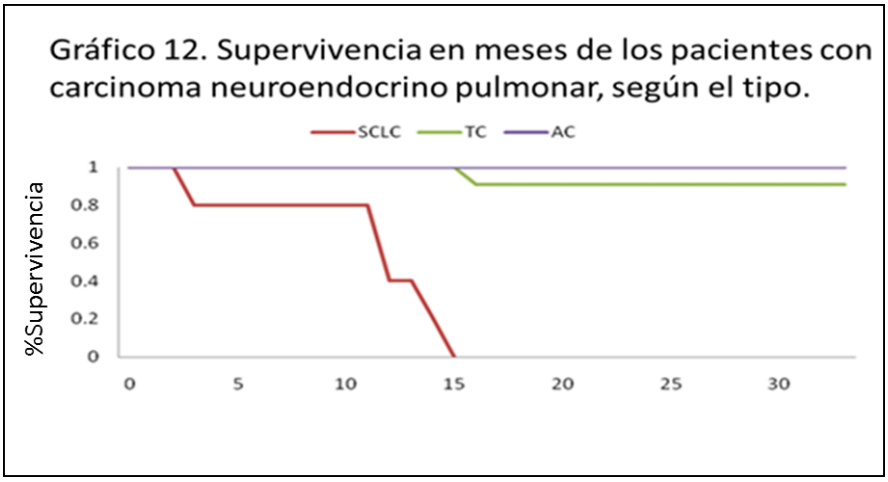
4.- EVALUACIÓN DE SUPERVIVENCIA

La Tabla 18 y el gráfico 12 muestran el seguimiento a la supervivencia de los pacientes de acuerdo con el tipo de carcinoma neuroendocrino pulmonar.

Tabla 18. Seguimiento a Supervivencia de pacientes con carcinoma neuroendocrino pulmonar

Supervivencia en meses	TC	AC	SCLC
Supervivencia total meses	365	66	42
Dato mínimo	7	26	1
Dato máximo	75	40	14
Promedio	33	33	8
Pacientes con datos clínicos de seguimiento	11/21 (52,4%)	2/3 (66,7%)	5/18 (27,8%)

Como lo menciona la literatura, el seguimiento del SCLC aún se hace en meses, tenemos un promedio de supervivencia de 8 meses (Yao JC, 2008). De los 5 pacientes con SCLC que tienen seguimiento, cuatro (4) fallecieron y uno, al mes de seguimiento se perdió. Para los pacientes con TC y AC el seguimiento está en 33 meses promedio. Ningún paciente de este grupo ha muerto de la enfermedad, y sólo una paciente ha fallecido por otros carcinomas asociados a los 16 meses del diagnóstico del TC. Con una supervivencia de 95.24% en el grupo de TC y 100% en el grupo de AC.



La Tabla 19 presenta los resultados de la evaluación de la supervivencia para 17 pacientes con proceso de seguimiento. Para esto, se empleó la aproximación de Kaplan Meier para determinar incidencias acumuladas. Adicionalmente, el gráfico 13 presenta la curva de Kaplan Meier realizada con la información obtenida del seguimiento.

Tabla 19. Análisis de supervivencia empleando el método de Kaplan Meier de incidencias acumuladas					
MES	**Individuos en riesgo**	**Número de Eventos**	**Probabilidad condicional del evento**	**Probabilidad condicional de supervivencia**	**Probabilidad acumulada de supervivencia**
3	16	1	0,062500	0,937500	0,937500
12	13	1	0,076923	0,923077	0,865385
14	11	1	0,090909	0,909091	0,786713
16	9	1	0,111111	0,888889	0,699301

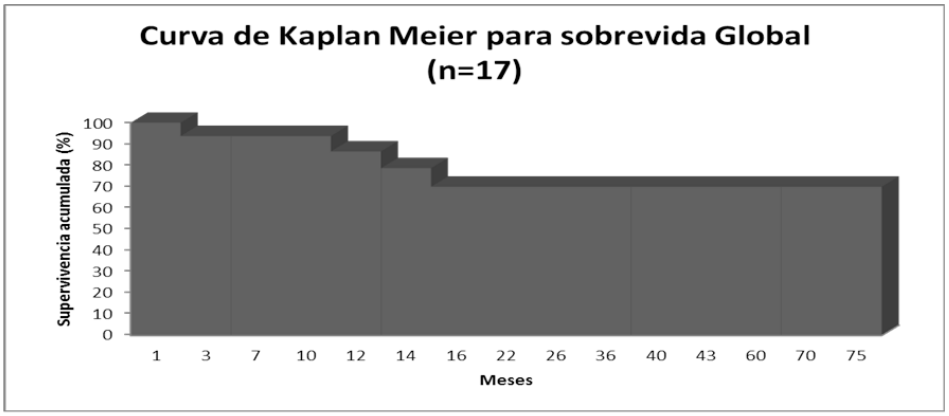


Gráfico 13. Curva de Kaplan Meier.

DISCUSIÓN

El presente estudio, que tuvo como propósito determinar las características clínicas y morfológicas de los pacientes diagnosticados con Carcinoma Neuroendocrino de Pulmón en la FSFB, encontramos:

Conceptos Generales

Se ha observado un incremento mundial en la incidencia de los TNE en general (ME, 2011) (Guzmán-Toro F, 2007) (Fuentes E, 2000) (Collado JC, 2007) (Yu Tseng F, 2006) (Acioly MA, 2008) (Esteva H, 2011) (Bandres D, 2001) (Bandres D, Tumor carcinoide: evolución y seguimiento a largo plazo: experiencia multicéntrica, 2001) (Novelo V, 1993) (Jiménez L, 2001), en el laboratorio de Patología de la FSFB se evidenció este incremento, en particular en los TNE pulmonares. En la práctica clínica llamaba la atención el aumento de los tumores carcinoides, en su mayoría TC, en mujeres de todas las edades, hallazgo no descrito en la literatura.
En el laboratorio de Patología de la FSFB se reciben casos para segunda opinión de diferentes laboratorios de Patología, tanto de la ciudad de Bogotá como de diferentes ciudades y áreas del país (Colombia). Por lo tanto, los datos clínicos no están completos y dificultan el análisis. El 56% de los casos de SCLC vienen de otra institución, y el 17% de los TC y AC; ver tabla 20. Evidenciando las dificultades diagnósticas y la necesidad de los patólogos de confirmar el diagnóstico de estos casos.

Tabla 20. Carcinomas neuroendocrinos pulmonares según la institución que atiende al paciente

CARCINOMA NEUROENDOCRINO	FSFB	OTRA INSTITUCIÓN
TC/AC	20 (83%)	4 (17%)
SCLC	8 (44%)	10 (56%)
Total	28 (67%)	14 (33%)

Por otra parte, en la comunidad médica hay dificultades con el concepto de los tumores carcinoides de pulmón. Los TNE tienen un espectro que se resume en la tabla 21, donde están descritas desde la lesión benigna hasta la más agresiva.

Tabla 21. Espectro de TNE y sus sinónimos

Nombre	Sinónimo	Grado de Malignidad
Tumorcillo Carcinoide	Carcinoid Tumorlets	Benigno
Tumor Carcinoide Típico	Carcinoma Neuroendocrino de Bajo Grado	Grado 1
Tumor Carcinoide Atípico	Carcinoma Neuroendocrino de Grado Intermedio	Grado 2
Carcinoma Neuroendocrino de Células Grandes	Carcinoma Neuroendocrino de Alto Grado	Grado 3
Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas	Carcinoma Neuroendocrino de Alto Grado Carcinoma de células en avena	Grado 3

Al estimar las características demográficas, clínicas y paraclínicas de la población de estudio, de acuerdo con el tipo de carcinoma neuroendocrino de pulmón presentado, se encontró:

Tumorcillos Carcinoides

Se presentaron dos casos en mujeres de 61 y 77 años, estos son benignos y por lo tanto bien diferenciados, con reactividad para cromogranina y sinaptofisina en 100% cada uno. El diámetro de las lesiones fue de 1,4 y 2,0 mm. El diagnóstico diferencial de estos Tumorcillos Carcinoides con el TC es el tamaño tumoral, siendo

catalogados como malignos los mayores a 5 mm de diámetro. Estos dos casos fueron remitidos a Patología, para nuestra segunda opinión, de otras dos instituciones, reafirmando el desconocimiento de la comunidad médica de estas lesiones.

Tumor Carcinoide Típico

De los carcinomas neuroendocrinos, el más frecuente es el TC, con 50,0% de los casos, predomina francamente en mujeres con una relación 3 a 1, hallazgo no informado previamente.

Tiene un rango de edad muy amplio, de 11 a 73 años y un promedio de 56 años. En el lado derecho pulmonar se presentan más frecuentemente, con 68,2% de los casos versus el izquierdo con 31,8%, y en el lóbulo superior y medio, versus el inferior, hallazgo no informado previamente en la literatura.

En los pacientes que se conocían los hábitos, 33,33% eran fumadores y 66,67% no fumadores, similar a lo descrito en la literatura (Rekhtman, 2010).

Todos (100%) marcaron para cromogranina y sinaptofisina, con reactividad difusa para 100% de sinaptofisina y 95,2% para cromogranina, siendo focal en 4,8%, descrito previamente en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 osciló entre el 1 y el 5%, con un promedio de 2,5%, similar a lo descrito en la literatura, ver tabla 22 (Rekhtman, 2010) (Costes V, 1995) (Arbiser ZK, 2001) (Pelosi G, 2003) (Aslan DL, 2005). Las mitosis se presentaron entre 0 y 2 mitosis por 10 campos de alto poder, con un promedio de 0,7 mitosis por 10 CAP. No se presentó con necrosis, descrito previamente en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010). Ver figura 7.

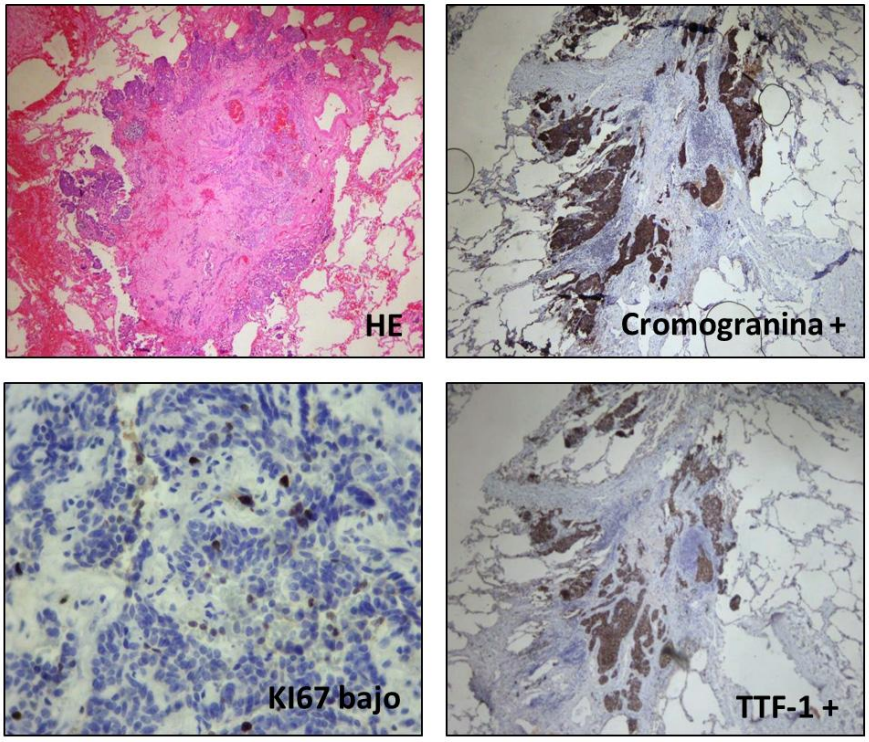


Figura 7. Tumor carcinoide típico con Hematoxilina Eosina, y los marcadores tumorales reactivos para Cromogranina y TTF-1. El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 es bajo.

Hubo metástasis al 2,3% de los ganglios linfáticos examinados. Una paciente (4,8%) falleció a los 16 meses de seguimiento, por enfermedad sistémica metastásica asociada de adenocarcinoma de esófago y cáncer de mama, diagnosticados 30 años antes, adicionalmente tuvo un Carcinoma de Células Renales 18 años antes.

El seguimiento de la supervivencia de la enfermedad está en 365 meses, con rango entre 7 y 75 meses y promedio de 33 meses, comparable a lo descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010). Ningún paciente murió de la enfermedad. Cuatro (4) pacientes se presentaron con tumores en más de un lugar.

Tumor Carcinoide Atípico

De los carcinomas neuroendocrinos, el menos frecuente es el AC, con 7,1% de los casos, todos en mujeres (p0,004) con un rango de edad de 46 a 68 años y un promedio de 56 años, predomina la presentación en el lado derecho pulmonar 66,7% versus 33,3% en el izquierdo, hallazgos no informados previamente en la literatura. En los pacientes que se conocían los hábitos, 50% eran fumadores y 50% no fumadores, similar a lo descrito en la literatura (Rekhtman, 2010). Todos estos hallazgos son similares a los encontrados en el Tumor Carcinoide Típico.

El tamaño tumoral del TC es de 6-45 mm y el volumen tumoral de 150-54.000 mm3, al compararlos con el AC de 20-50 mm, y de 6.750-125.000 mm3, es superior en el AC. Los tumores múltiples se presentaron en 19% del TC y en 33,3% del AC. Aunque estos no son criterios para diagnóstico diferencial, permiten inferir la mayor agresividad del Tumor Carcinoide Atípico, hallazgos no informados previamente en la literatura.

El AC tiene reactividad difusa para cromogranina en 67% y para sinaptofisina en 100%. El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 osciló entre 3 y 10%, con un promedio de 6,7% similar a lo descrito en la literatura, ver tabla 22 (Rekhtman, 2010) (Costes V, 1995) (Arbiser ZK, 2001) (Pelosi G, 2003) (Aslan DL, 2005). Las mitosis se presentaron entre 1 y 4 mitosis por 10 campos de alto poder, con un promedio de 2,3 mitosis por 10 CAP. No se presentó necrosis ni metástasis a otro lugar, comparable a lo descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010). Ver figura 8.

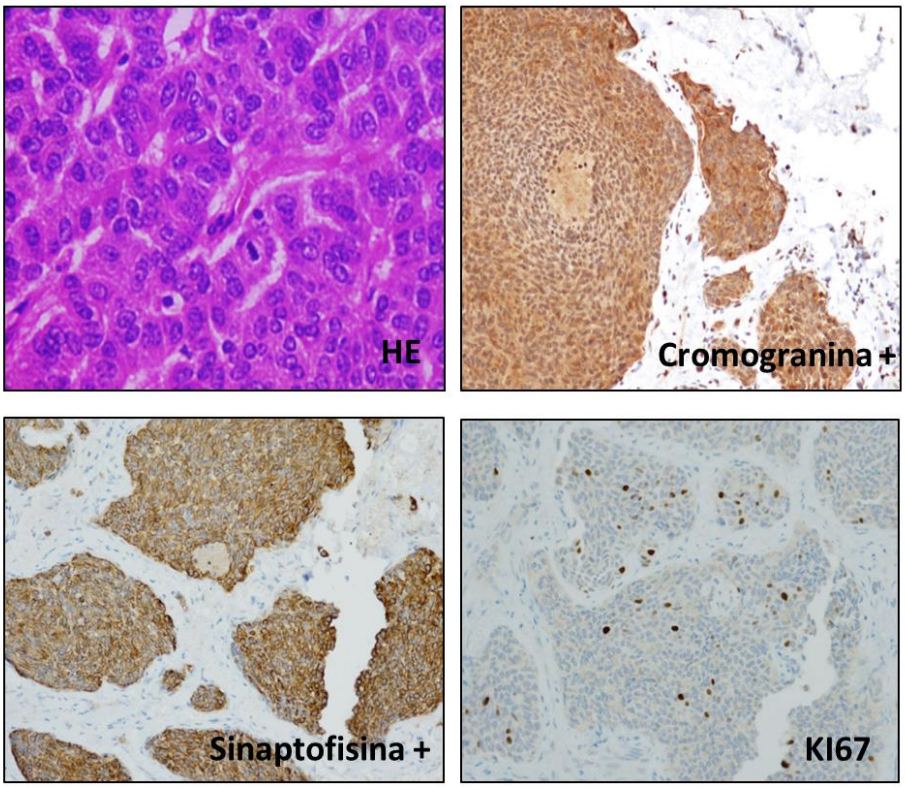


Figura 8. Tumor carcinoide atípico con Hematoxilina Eosina, y los marcadores tumorales reactivos para Cromogranina y Sinaptofisina. El índice de proliferación celular con el marcador Ki-67 es bajo.

El seguimiento de la supervivencia de la enfermedad está en 60 meses, con rango entre 26 y 40 meses y promedio de 33 meses, comparable a lo descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010). Ningún paciente murió de la enfermedad. Un paciente (1) se presentó con tumor en más de un lugar; uno se asoció a carcinoma de células renales documentándose en este la mutación MEN 1, descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

Carcinoma Neuroendocrino de Células Grande

No tenemos casos de este tipo tumoral en el periodo del estudio.

Carcinoma Neuroendocrino de Células Pequeñas

De los carcinomas neuroendocrinos, está en segundo lugar el SCLC con 42,9% de los casos. En nuestro estudio Las características clínicas de presentación son diferentes a los TC y AC, y se resumen a continuación: predomina en hombres 70,6%, invirtiéndose la relación a 1 mujer por 2 hombres, siendo estadísticamente significativo (p 0,004), no descrito previamente. La edad de presentación es más alta, con un rango de edad de 44 a 82 años y un promedio de 67 años (p 0,0073), descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010). La presentación es por igual en el lado derecho pulmonar versus el lado izquierdo, dado el compromiso sistémico de la enfermedad. Predomina en pacientes fumadores 87,5%, con historia de exposición de 20 a 90 paquetes año, descrito en la literatura (WHO, 2004) (Travis WD, 2010).

La reactividad para cromogranina 72,2% (53,8% focal) (p0,01) y para sinaptofisina 93,8% (20% focal) (p 0,0147), es inferior a la de los TC y AC. El índice de proliferación celular con el marcador Ki67 osciló entre 50% y 90%, con un promedio de 73,1% (p0,000) similar a lo descrito en la literatura, ver tabla 22, y todos presentaron necrosis (p0,000), asociándose a los criterios diagnósticos del SCLC, y 5 pacientes (11,9%) con metástasis a otro lugar (p0,003), evidentemente significativos por la gran agresividad del tumor a diferencia de los TC y AC. En concordancia con lo recogido en otras publicaciones (WHO, 2004) (Travis WD, 2010) (Rekhtman, 2010) (Costes V, 1995) (Arbiser ZK, 2001) (Pelosi G, 2003) (Aslan DL, 2005). Ver figura 9.

Llama la atención que el tamaño tumoral encontrado es menor para los SCLC 1,0 cm versus 2,15 cm para los TC/AC (p0,000), debido a que el diagnóstico del SCLC generalmente se hace por biopsia y no se hace

resección quirúrgica, los encontrados en resección quirúrgica fueron hallazgos incidentales, asociados a otro tumor. Dada esta circunstancia la cantidad disponible de tejido para analizar es inferior en los SCLC, y explica la falta de tejido y/o tumor encontrada en el estudio.

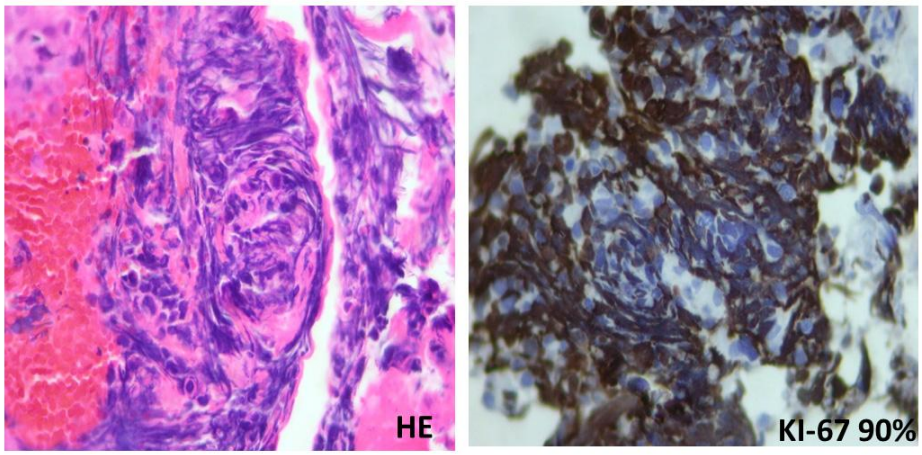


Figura 9. Fragmento tumoral de biopsia pulmonar, HE, con marcado aplastamiento de las células tumorales, el índice de proliferación celular, medido con el marcador ki-67 es alto. Carcinoma de célula pequeña.

El seguimiento de la supervivencia de la enfermedad está en 42 meses, con rango entre 1 y 14 meses. Cuatro (4) pacientes murieron de la enfermedad a los 3, 12, 12 y 14 meses después de diagnosticado. Uno (1) paciente tenía antecedente de Carcinoma Escamocelular 6 Años antes. Para 13 pacientes con SCLC no tenemos seguimiento.

Pacientes Fumadores

Los pacientes fumadores con dato conocido correspondieron a 58,3% (14/24), 50% de los pacientes con TC/AC eran fumadores, y 83,3% con SCLC (p0,0390), siendo estos últimos todos grandes fumadores El promedio de paquetes fumados es superior para los pacientes con SCLC

40 (±27,8) paquetes/año versus 12,3 (±28,4) paquetes/año para los pacientes con TC/AC. En la literatura es evidente la asociación del SCLC al tabaquismo, y no es clara la asociación con los TC/AC (Rekhtman, 2010).

Metástasis

Se presentaron 5 metástasis conocidas en el momento del diagnóstico, en 5 casos, todos los cuales correspondieron a SCLC. Los lugares más frecuentes de metástasis fueron Hígado, Pleura y Mediastino, cada uno con 22%; y Ganglios linfáticos, Pericardio y Reja Costal cada uno con 11%. Lugares descritos en la literatura (Rekhtman, 2010).

Analizando las metástasis a Ganglios Linfáticos tenemos que 10% (1/10) de los pacientes con TC hacen metástasis a ganglios linfáticos regionales, 33,3% (1/3) de los pacientes con AC, y 100% (1/1) de los pacientes con SCLC (p0,003). Son pocos los pacientes, sin embargo es estadísticamente significativo y se correlaciona con lo descrito en la literatura (Rekhtman, 2010).

El 2,3% de los ganglios linfáticos estaba comprometido en los pacientes con TC, y 6,7% de los ganglios linfáticos de pacientes AC, según lo reportado en la literatura (Quinn AM, 2012).

Antecedentes Patológicos

De los antecedentes patológicos y quirúrgicos se encontraron en 10 pacientes hallazgos relevantes, una paciente tenía adenocarcinoma de esófago y cáncer de mama 30 años antes, un paciente carcinoma escamocelular 6 años antes, un paciente carcinoma de células renales 18 años antes, un paciente carcinoma de célula pequeña de pulmón derecho 4 meses antes, y llama la atención 4 pacientes con nódulos pulmonares, 3 nódulos derechos removidos quirúrgicamente 2 años antes, sin dato de patología; y un paciente con tumor carcinoide del bronquio 6 años antes.

Dos pacientes tenían lesiones benignas asociadas, una un fibroadenoma de seno derecho y otro un quiste benigno de hígado. Probablemente representan cambios genéticos en su ADN.

Al describir las características paraclínicas en la población de estudio, se encontró:

Marcadores de Inmunohistoquímica

Cromogranina

La reactividad de la cromogranina en las células tumorales se presenta en todos (100%) los casos de TC/AC, y en la mayoría de casos (62%) de SCLC similar a lo descrito en otras publicaciones (WHO, 2004) (Travis WD, 2010) (Rekhtman, 2010). Ante la negatividad del carcinoma neuroendocrino a la cromogranina, se favorece que este sea de alto grado. Esto no tiene significancia estadística, p0,010. Predomina la reactividad débil tanto para los SCLC (91,7%) como para los TC y AC (64,7%). En la distribución de la reactividad en las células tumorales, todos los TC y AC (100%) tienen reactividad difusa, y esta es frecuente en los SCLC (63,6%). Ver figuras 7 y 8.

Sinaptofisina

La reactividad de la Sinaptofisina en las células tumorales se presenta en todos (100%) los casos de TC y AC, y en la mayoría de casos (93,3%) de SCLC. Siendo este un excelente marcador de Inmunohistoquímica para confirmar el diagnóstico de Neuroendocrino, seguido por la cromogranina. La negatividad del carcinoma neuroendocrino a la sinaptofisina, no tiene significancia estadística (p0,147) para diferenciar los diferentes grados tumorales.

Predomina la reactividad débil, tanto para los SCLC (93,3%) como para los TC y AC (66,7%). Hallazgo similar al encontrado para la cromogranina. Todos los TC y AC (100%) tienen reactividad difusa, y esta es frecuente en los SCLC (80,0%) Ver figura 8.

Marcador de proliferación celular Ki-67

Se encontró proliferación celular en todo el espectro de carcinomas neuroendocrinos de pulmón, desde los tumorcillos carcinoides hasta los carcinomas neuroendocrinos indiferenciados de célula pequeña, en 100% de los casos a los cuales se les realizó el marcador KI67.

El índice de proliferación celular medido con el marcador Ki67, en el espectro de carcinomas neuroendocrinos de pulmón muestra un promedio de reactividad así: 1,9% para tumorcillos carcinoides, 2,6% para los TC, 6,7% para los AC y 73,5% para los SCLC. Ver figuras 7, 8 y 9.

El índice de proliferación celular medido con el marcador Ki67 en los TC/AC es: ≤2% en 61,5% de los casos, entre 3 y 5% en 30,8% de los casos, y entre 6 y 10% en 7,7% restante de los casos, con un promedio de proliferación celular de 3,04% (±2,1%). Todos los SCLC tienen un índice de proliferación celular ≥50%, con un promedio de 73,5% (50-90%) (±12,0%).

Como algunos estudios lo sugieren, es poco probable que haya un SCLC con un índice de proliferación celular bajo, inferior a 50%. Convirtiendo al marcador Ki67 en una excelente herramienta auxiliar de diagnóstico, en especial para las biopsias y citologías, mencionado ya en la literatura (Rekhtman, 2010). La Tabla 22 muestra la Comparación de los índices de proliferación celular reportados con Ki-67 (Rekhtman, 2010) (Costes V, 1995) (Arbiser ZK, 2001) (Pelosi G, 2003) (Aslan DL, 2005).

Tabla 22. Comparación de los índices de proliferación celular reportados con Ki-67 en Carcinomas Neuroendocrinos Pulmonares

Fuente	Tipo de Muestra	N	Porcentaje promedio de células positivas para Ki-67 (rango)		
			TC	AC	SCLC
Kobayashi et al, 2004	Resección	57	0,5	5	76
Arbiser et al, 2001	Resección	20	1	9	
Igarashi et al, 2004	Resección	111	1,3 (0,3-2,3)	8,6 (0,2-17)	55 (44-66)
Pelosi et al, 2005	Resección	220	2,3	9	64
Costes et al, 1995	Resección	47	0,45	2,4 (0-6)	
Pelosi et al, 2005	Biopsia	15	0,5 (0-1)	7,2 (17,1)	82 (60-96)
Aslan et al, 2005	Biopsias y Resección	22	1 (00-10)		60 (25-90)
Lin et al, 2003	Citología	63	<25		>50
Media ponderada para estudios previos			1,5(0-2,3)	7,7 (0-17)	64 (25-96)
Palacios et al, 2013	Biopsias y Resección	42	2,5 (1-5)	6,7 (3-10)	73,5 (50-90)

TTF-1 (Thyroid Transcription Factor - 1)

Todos (100%) los tumorcillos carcinoides, AC y SCLC, y 72% de los TC evaluados fueron reactivos. Sólo 5 casos fueron negativos, todos correspondientes al TC (28%). Esto no tiene significancia estadística, p0,057. En todos los carcinomas neuroendocrinos la reactividad fue difusa (100%); y en la mayoría fue intensa (76,7%), siendo más alta para los SCLC (87,5%) comparado con los TC/AC (64,3%).

Llama la atención que todos los SCLC y AC son reactivos para TTF-1, con reactividad difusa y de predominio intensa; comparado con los TC, en los cuales se encuentra 28% de negatividad, y de los reactivos la

intensidad es débil en 35,7% de los casos. Este hallazgo está descrito en la literatura (Rekhtman, 2010). Ver figuras 7 y 10.

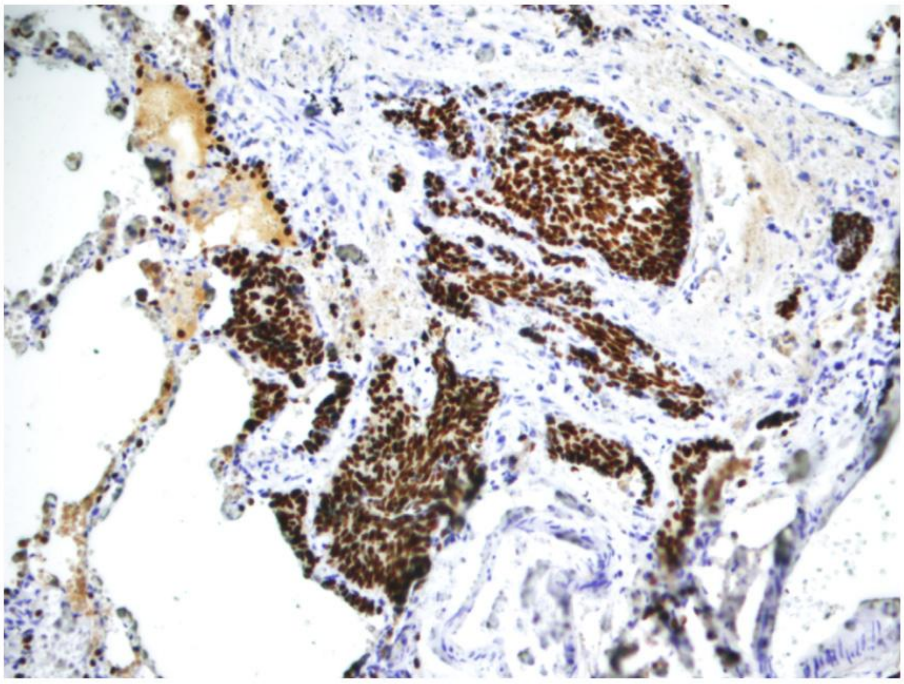


Figura 10. Tumor carcinoide típico, células tumorales reactivas para el marcador TTF-1.

Citoqueratina 7 (CK7)

El 33,3% de los TC y el 66,7% de los SCLC fueron reactivos. La reactividad fue débil y focal en todos los casos.

Citoqueratina 20 (CK20)

Todos los casos fueron negativos, 6 TC y 5 SCLC.

Antígeno Carcino Embrionario Policlonal (CEAP)

El 60% de los casos fueron reactivos, 66,7% de TC y 50% de SCLC.

Citoqueratina AE1/AE3 (CKAE1/AE3)

El 90,9% fueron reactivos, 100% de los TC/AC, y 85,7% de los SCLC. Ver Figura 11.

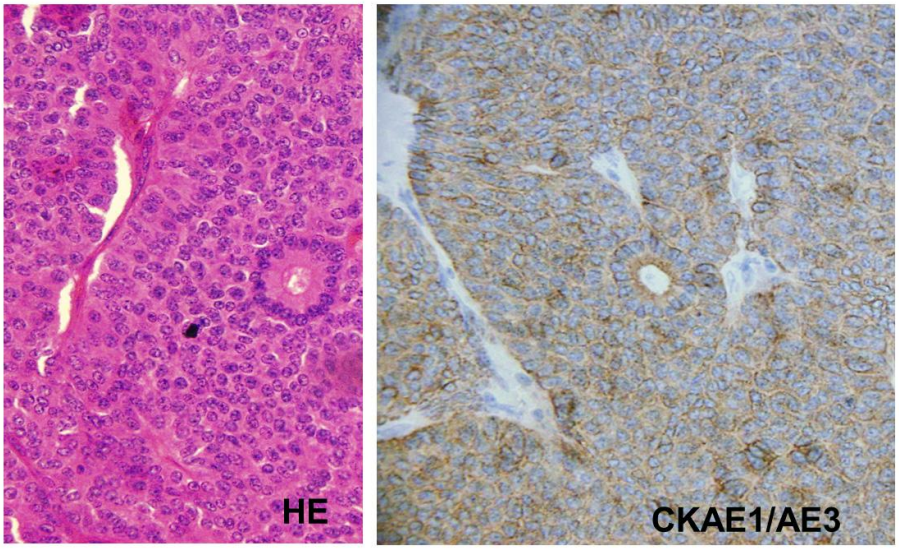


Figura 11. Tumor carcinoide típico, Hematoxilina Eosina, y células tumorales reactivas para el marcador Citoqueratina AE1/AE3.

CAM 5.2

Todos (100%) fueron reactivos, 1 TC y 3 SCLC.

Citoqueratina 5/6 (CK5/6)

El 50% de los SCLC fueron reactivos.

CD56

Todos (100%) fueron reactivos en SCLC.

Los hallazgos anteriores resaltan la diferencia entre los TC/AC y el SCLC, indicando que se trata de dos enfermedades diferentes, como lo

mencionado recientemente en la literatura (Kajatt, 2013) (Li L, 2013) (Cheng CY, 2011).

La figura 12 muestra otros marcadores tumorales que pueden estar presentes en las células tumorales de los TNE de pulmón.

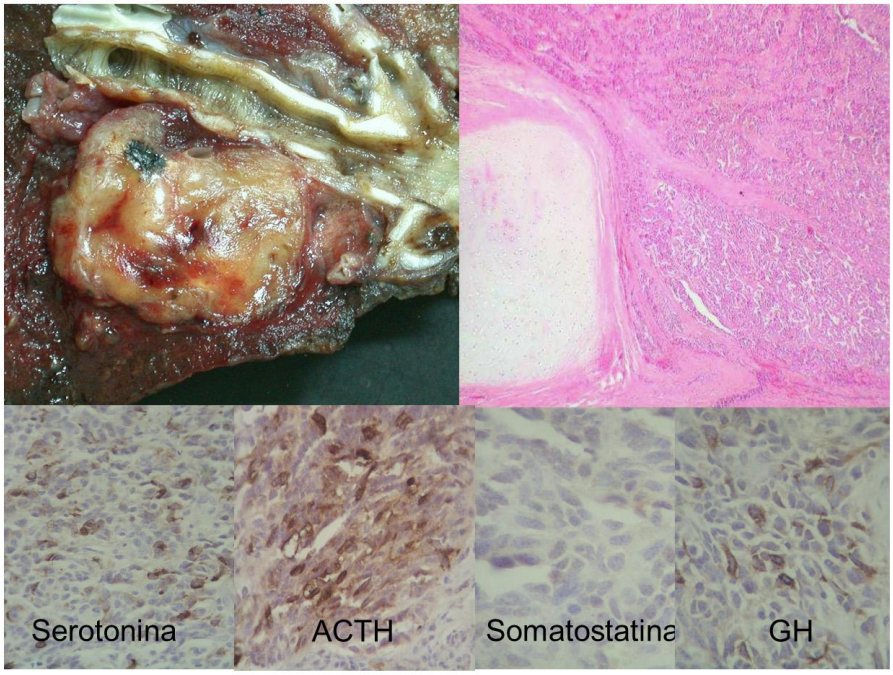


Figura 12. Tumor carcinoide típico imagen macroscópica y HE, productor de ACTH, Serotonina y GH, negativo para Somatostatina.

Receptores Estrogénicos Clásicos y GPER

Todos los casos analizados (100%) para Receptores Estrogénicos fueron negativos, comparados con 1 de 13 casos (7,7%) negativos para GPER. Al analizar las diferencias por género, encontramos que el caso GPER negativo corresponde a un hombre (100%). Los casos positivos con reactividad baja (grado 1) a GPER corresponden a 3 de 6 hombres (50%) y a 3 de 6 mujeres (50%). Todos los casos positivos de reactividad alta (grado 2) a GPER corresponden a mujeres (6 de 6; 100%), este hallazgo no está descrito en la literatura. Ver figura 13.

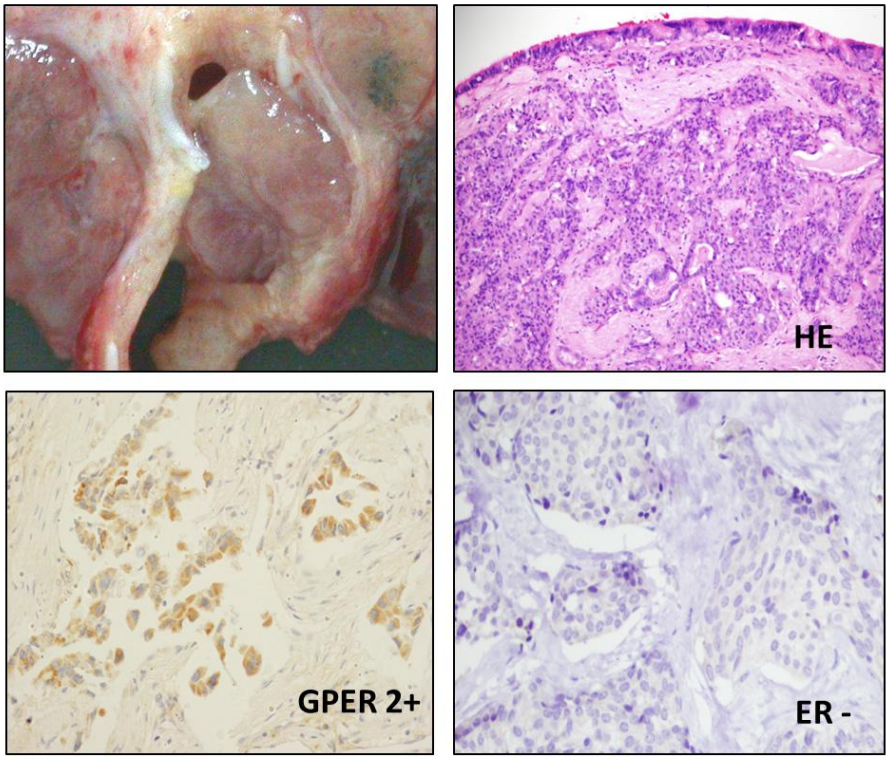


Figura 13. Tumor carcinoide atípico, imagen macroscópica, Hematoxilina Eosina, y marcadores tumorales reactivo para GPER 2+ y negativo para receptores estrogénicos.

Al analizar las diferencias por edad encontramos que los casos GPER negativos o de reactividad baja tienen un promedio de edad mayor, 65,5 años (53-82) que los GPER de reactividad alta, 57 años (35-70) (p0,070), este hallazgo no está descrito en la literatura.

Al analizar los casos por tipo de carcinoma neuroendocrino encontramos que el caso GPRE negativo corresponde a un SCLC. Los casos GPER positivos con reactividad baja, corresponden a 2 (33,3%) SCLC y 4 (66,7%) TC. Dos (50%) de los TC son sincrónicos, con tumor en más de un lóbulo pulmonar, y 1 (25%) es recidivante. Dos (50%) de estos TC son TTF1 negativos.

Todos los casos GPER positivos de reactividad alta corresponden a TC (83,3%%) y AC (16,7%). Uno de estos TC hizo metástasis a ganglios linfáticos. Sugiere que a mayor reactividad del marcador GPER hay menor agresividad tumoral, sin embargo no se pueden sacar conclusiones definitivas dado el número de la muestra, este hallazgo no está descrito en la literatura.

En las limitaciones, tenemos que no se puede determinar una verdadera asociación entre las variables que reportaron un significancia estadística, puesto que este tipo de evaluaciones requieren de diseños observacionales que permitan establecer si existe o no una verdadera asociación.

La significancia estadística obtenida en las pruebas de inmunohistoquímica, incluido el índice de proliferación celular, necrosis y mitosis, es debido a que estas sirven para establecer el diagnóstico de los TNE.

En las fortalezas de este estudio, tenemos la cantidad de pacientes reclutada con esta patología, para la cual no se conocen datos de Hispanoamérica, superior a la informada previamente en otros estudios de la región, y no se tienen estudios previos en este tipo de tumores con GPER, descritos en la literatura.

La secuenciación de próxima generación ha cambiado el paradigma de investigación y cuidado de los pacientes, para todo tipo de cáncer.

CONCLUSIONES

1.- Se ha observado un incremento mundial en la incidencia de los TNE en general, en el laboratorio de Patología de la FSFB se evidenció este incremento, en particular en los TNE pulmonares.

2.- En la distribución de los carcinomas neuroendocrinos, encontramos que el TC (50%) y el AC (7,1%) predominan en mujeres y tienen una presentación en población más joven, estadísticamente significativa, comparados con el SCLC.

3.- Todos los casos de TC fueron positivos para cromogranina y sinaptofisina, el índice de proliferación celular estudiado con el marcador Ki-67 fue del 2,5% (1- 5%), con un promedio de 0,7 mitosis por 10 CAP; presentaron metástasis a 2,3% de los ganglios linfáticos examinados. Ningún paciente murió de la enfermedad. Cuatro pacientes presentaron tumores en más de un lugar.

4.- El tamaño y el volumen tumoral del AC son superiores a los del TC, y se presentaron tumores múltiples en 19% del TC y en 33,3% de AC. Aunque estos no son criterios para diagnóstico diferencial, permiten inferir la mayor agresividad del Tumor Carcinoide Atípico.

5.- El AC tiene menor reactividad para cromogranina (67%) comparado con el TC; todos los casos fueron reactivos para sinaptofisina y el índice de proliferación celular es de 6,7% con un promedio de 2,3 mitosis por 10 CAP.

6.- El SCLC predomina en hombres (70,6%) fumadores con historia de exposición de 20 a 90 paquetes año, con edad de presentación mayor, siendo hallazgos estadísticamente significativos. La reactividad para cromogranina y para sinaptofisina es inferior a la de los TC y AC.

7.- La reactividad para TTF-1 en los SCLC es significativamente superior que para los TC, así como el índice de proliferación celular, con 73,1% (50-90%). Cuatro (4) pacientes murieron de la enfermedad a los 3, 12, 12 y 14 meses después de diagnosticado. Los lugares más frecuentes de metástasis fueron Hígado, Pleura y Mediastino, cada uno con 22%; y Pericardio y Reja Costal cada uno con 11%.

8.- Metastatizan a ganglios linfáticos regionales el 10% de los pacientes con TC, el 33,3% de los pacientes con AC, y el 100% de los pacientes con SCLC. El 2,3% de los ganglios linfáticos estaba comprometido en los pacientes con TC, y 6,7% de los ganglios linfáticos de pacientes AC.

9.- Llama la atención que todos los SCLC y AC son reactivos para TTF-1, con reactividad difusa y de predominio intensa; comparado con los TC, en los cuales se encuentra 28% de negatividad, y de los reactivos la intensidad es débil, en 35,7% de los casos.

10.- Todos los casos GPER positivos de reactividad alta corresponden a TC (83,3%%) y AC (16,7%). Uno de estos TC metastatizó a ganglios linfáticos. Sugiere que a mayor reactividad del marcador GPER hay menor agresividad tumoral, sin embargo no se pueden sacar conclusiones definitivas. El tratamiento con inhibidores de moléculas pequeñas que modulan específicamente la actividad de GPER puede ser de utilidad en los TNE.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acioly MA, C. C.-F. (2008). Unusual presentation of central nervous system metastases: mechanisms of spread and radiological findings. Arq. neuropsiquiatr, 66 (3), 755-757.

2. Álvarez M, P. S. (2012). Detection of Gene Dosage in Circulating Free Plasma DNA as Biomarker for Lung Cancer. Journal of Cancer Therapy, 3 (4A), 343-351.

3. Annual Review of Advances in Non-small Cell Lung Cancer Research. A Report for the Year 2010.2011J Thorac Oncol. 61-8

4. Arbiser ZK, A. J. (2001). Neuroendocrine lung tumors: grade correlates with proliferation but not angiogenesis. Mod Pathol., 14 (12), 1195-9.

5. Arias-Pulido H, R. M. (2010). GPR30 and estrogen receptor expression: new insights into hormone dependence of inflammatory breast cancer. Breast Cancer Res Treat., 123 (1), 51-58.

6. Así vamos en Salud (2013). http://www.asivamosensalud.org/inidicadores/estado-de-salud. (C. U. Organizada por Fundación Santa Fe de Bogotá, Editor, & C. U. Organizada por Fundación Santa Fe de Bogotá, Productor) Recuperado el 15 de 6 de 2013, de Así vamos en Salud: http://www.asivamosensalud.org/inidicadores/estado-de-salud

7. Aslan DL, G. H. (2005). Ki-67 immunoreactivity in the differential diagnosis of pulmonary neuroendocrine neoplasms in specimens with extensive crush artifact. Am J Clin Pathol., 123 (6), 874-8.

8. Bailey-Wilson JE, A. C. (2004). A major lung cancer susceptibility locus maps to chromosome 6q23-25. Am J Hum Genet., 75 (3), 460-74.

9. Bandres D, Y. E. (2001). Tumor carcinoide: evolución y seguimiento a largo plazo: experiencia multicéntrica. Gastroenterología, endocrinología y nutrición, 55 (4), 207-212.

10. Bandres D, Y. E. (2001). Tumor carcinoide: evolución y seguimiento experiencia multicéntrica. Clín. méd. H.C.C, 6 (1), 53-56.

11. Banerjee SK, W. A. (1998). Quick-FISH: a rapid fluorescence in situ hybridization technique for molecular cytogenetic analysis. Biotechniques., 24 (5), 826-830.

12. Barr MP, G. S. (2013). Generation and characterisation of cisplatin-resistant non-small cell lung cancer cell lines displaying a stem-like signature. PLoS One, 8 (1), e54193.

13. Bertino EM, C. P. (2009). Pulmonary neuroendocrine/carcinoid tumors: a review article. Cancer, 115 (9), 4434-41.

14. Bhamidipati PK, R. A.-N. (2011). An Atypical Presentation with Diagnostic Challenge of a Large Cell Neuroendocrine Cancer of Lung: A Case Report and Review of the Literature. Lung Cancer International, 6.

15. Bilello KS, M. S. (2002). Epidemiology, etiology, and prevention of lung cancer. Clin Chest Med., 23 (1), 1-25.

16. Bouchardy C, B. S.-H.-C. (2011). Lung cancer mortality risk among breast cancer patients treated with anti-estrogens. Cancer, 117, 1288–1295.

17. Brinton LA, G. G. (2011). Reproductive and hormonal factors and lung cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 20 (5), 900-11.

18. Brzeziańska E, D. A. (2013). The significance of epigenetic alterations in lung carcinogenesis. Mol Biol Rep., 40 (1), 309-25.

19. Cakir M, G. A. (2011). The molecular pathogenesis and management of bronchial carcinoids. Expert Opin Ther Targets., 15 (4), 457-91.

20. Carey MA, C. J. (2007). The impact of sex and sex hormones on lung physiology and disease: lessons from animal studies. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol., 273 (2), 272-278.

21. Carmeci, C. T. (1997). Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer. Genomics., 45, 607-617.

22. Carrillo EF, A. Y. (2009). Oncogene amplification as tumor marker in a group of Colombian lung cancer patients. Colombia Médica, 40 (2), 148-157.

23. Catarino R, A. A. (2010). Prognostic significance of telomerase polymorphism in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res., 16 (14), 3706-12.

24. Catelinois O, R. A. (2006). Lung cancer attributable to indoor radon exposure in france: impact of the risk models and uncertainty analysis. Environ Health Perspect., 114 (9), 1361-6.

25. Chen CH, C. R. (2011). Prevalence of telomerase activity in human cancer. J Formos Med Assoc., 110 (5), 275-89.

26. Cheng CY, N. A. (2011). Neuroendocrine cells: potential cells of origin for small cell lung carcinoma. Cell Cycle, 10 (21), 3629-30.

27. Collado JC, A. R. (2007). Tumores carcinoides del pulmón: presentación de un caso. Rev. cuba. cir., 46 (4), 1-6.

28. Corner J, H. J. (2005). Is late diagnosis of lung cancer inevitable? Interview study of patients' recollections of symptoms before diagnosis. Thorax., 60 (4), 314-9.

29. Cosmic catalogue of somatic mutations in cancer ESR2. (s.f.). Recuperado el 24 de 7 de 2013, de Cosmic catalogue of somatic mutations in cancer: http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/overview?ln=ESR2

30. Cosmic Catalogue of somatic mutations in cancer GPER. (s.f.). Recuperado el 24 de 7 de 2013, de Cosmic Catalogue of somatic mutations in cancer: http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/overview?ln=GPER

31. Cosmic Tissue Overview Lung Fusions. (s.f.). Recuperado el 27 de 7 de 2013, de http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#sn=lung&ss=all&hn=carcinoma&sh=&in=t&src=tissue.

32. Costes V, M.-A. C. (1995). Typical and atypical bronchopulmonary carcinoid tumors: a clinicopathologic and KI-67-labeling study. Hum Pathol., 26 (7), 740-5.

33. Coté ML, L. M. (2012). Increased risk of lung cancer in individuals with a family history of the disease: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium. Eur J Cancer., 48 (13), 1957-68.

34. de Andrade M, E. J. (2004). Environmental tobacco smoke exposure in women with lung cancer. Lung Cancer., 43 (2), 127-34.

35. De Flora S, B. R. (1996). Adducts to nuclear DNA and mitochondrial DNA as biomarkers in chemoprevention. IARC Sci Publ, 139, 291-301.

36. Eriksson B, O. K. (2010). Carcinoid syndrome. En D. G. Jameson JL, Endocrinology (págs. 2774-86). Philadelphia, PA: Saunders Elsevier.

37. Esteva H, N. T. (2011). Tumores Carcinoides Broncopulmonares. Rev. Argent. Cirug., 100 (5-6), 100-113.

38. Fang S, P. S.-W. (2010). Ordered subset analysis identifies loci influencing lung cancer risk on chromosomes 6q and 12q. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 19 (12), 3157-66.

39. Filardo EJ, T. P. (2012). Minireview: G protein-coupled estrogen receptor-1, GPER-1: its mechanism of action and role in female reproductive cancer, renal and vascular physiology. Endocrinology., 153 (7), 2953-62.

40. Frances N, Z. S. (2013). Gastric Small-Cell Carcinoma Found on Esophagogastroduodenoscopy: A Case Report and Literature Review. Case Reports in Oncological Medicine, 1-5.

41. Fuentes E, C. S. (2000). Tumores carcinoides del pulmón. Rev. cuba. cir., 39 (2), 115-23.

42. García-Herreros LG, T. A. (2011). Cáncer pulmonar en adultos jóvenes no fumadores Reporte de casos. Rev Colomb Neumol, 23 (1), 26-29.

43. García-Yuste M, M. J.-A. (2008). Neuroendocrine tumors of the lung. Curr Opin Oncol, 20 (2), 148-54.

44. García-Yuste M, M. J.-c. (2007). Typical and atypical carcinoid tumours: analysis of the experience of the Spanish Multi-centric Study of Neuroendocrine Tumours of the Lung. Eur J Cardiothorac Surg, 31 (2), 192-7.

45. Globocan

46. Gómez Raposo C, D. C. (2007). Factores etiológicos del cáncer de pulmón: fumador activo, fumador pasivo, carcinógenos medioambientales y factores genéticos. Med Clin (Barc), 128 (10), 390-6.

47. Gorlova OY, W. S. (2007). Aggregation of cancer among relatives of never-smoking lung cancer patients. Int J Cancer., 121 (1), 111-8.

48. Gridelli C, R. A. (2012). Treatment of pulmonary neuroendocrine tumours: State of the art and future developments. Cancer Treat Rev.

49. Guzmán-Toro F, T. J. (2007). Tumores neuroendocrinos: presentación de dos casos de tumores carcinoides del pulmón. Rev. venez. oncol., 19 (3), 235-240.

50. Hainaut P, V. K. (1997). p53 as a sensor of carcinogenic exposures: mechanisms of p53 protein induction and lessons from p53 gene mutations. Pathol Biol, 45 (10), 833-44.

51. Hecht, S. S. (2003). Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. Nat Rev Cancer., 3 (10), 733-744.

52. Hecht, S. S. (1999). Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. J Natl Cancer Inst., 91 (14), 1194-210.

53. Hill, C. (2013). Cancer prevention and screening. Bull Cancer, 100 (6), 547-554.

54. Huang C, Y. L. (2007). Detection of CCND1 amplification using laser capture microdissection coupled with real-time polymerase chain reaction in human esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Genet Cytogenet, 175 (1), 19-25.

55. Huang GS, G. M.-P. (2010). Co-expression of GPR30 and ERbeta and their association with disease progression in uterine carcinosarcoma. Am J Obstet Gynecol., 203 (3), 242.e1-5.

56. Hubaux R, B.-S. D. (2012). Arsenic, asbestos and radon: emerging players in lung tumorigenesis. Environ Health, 11, 11-89.

57. Human Gene ESR1. (s.f.). Recuperado el 24 de 7 de 2013, de Human Gene ESR1 (uc003qon.4) Description and Page Index: http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGene?hgg_gene=uc003qon.4&hgg_prot=P03372&hgg_chrom=chr6&hgg_start=152128453&hgg_end=152424408&hgg_type=knownGene&db=hg19&hgsid=338057777

58. Human Gene ESR2. (s.f.). Recuperado el 24 de 7 de 2013, de Human Gene ESR2 (uc001xgw.1) Description and Page Index: https://cgwb.nci.nih.gov/cgi-bin/hgGene?hgg_gene=uc001xgw.1&hgg_prot=&hgg_chrom=chr14&hgg_start=63763503&hgg_end=63875021&hgg_type=knownGene&db=hg18&hgsid=281165

59. Husgafvel-Pursiainen, K. (2004). Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. Mutat Res., 567 (2-3), 427-445.

60. Ignatov A, I. T. (2010). Role of GPR30 in the mechanisms of tamoxifen resistance in breast cancer MCF-7 cells. Breast Cancer Res Treat., 123 (1), 87-96.

61. Iyoda A, H. K. (2004). Pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma demonstrates high proliferative activity. Ann Thorac Surg., 77 (6), 1891-5.

62. Jala VR, R. B. (2012). Enhanced expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in lung cancer. BMC Cancer, 12, 624.

63. Jiménez L, B. J. (2001). Tumores carcinoides bronquiales. Cuad. Cir., 15, 44-50.

64. Kabir Z, B. K. (2007). Lung cancer and urban air-pollution in Dublin: a temporal association? Ir Med J., 100 (2), 367-9.

65. Kajatt, E. A. (2013). Lung cancer: a review of current knowledge, diagnostic methods and therapeutic perspectives. Rev Peru Med Exp Salud Publica, 30 (1), 85-92.

66. Kaneda H, Y. T. (2013). Molecularly targeted approaches herald a new era of non-small-cell lung cancer treatment. Cancer Manag Res., 5, 91-101.

67. Kirtee Raparia, C. V. (2013). Molecular Profiling in Non–Small Cell Lung Cancer: A Step Toward Personalized Medicine. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 137 (4), 481-491.

68. Kiyohara C, O. Y. (2010). Sex differences in lung cancer susceptibility: a review. Gender Medicine, 7, 381–401.

69. Kobayashi S, B. T. (2005). EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med., 352 (8), 786-92.

70. Kobayashi Y, T. Y. (2004). Molecular markers for reinforcement of histological subclassification of neuroendocrine lung tumors. Cancer Sci., 95 (4), 334-41.

71. Köchl S, N. H. (2005). DNA extraction and quantitation of forensic samples using the phenol-chloroform method and real-time PCR. Methods Mol Biol., 297, 13-30.

72. Koehler KF, H. L. (2005). Reflections on the discovery and significance of estrogen receptor β". Endocr. Rev., 26 (3), 465–78.

73. Leotlela PD, J. A.-G. (2003). Genetics of neuroendocrine and carcinoid tumours. Endocr Relat Cancer, 10, 437-50.

74. Li L, Y. H. (2013). Expression of seven stem-cell-associated markers in human airway biopsy specimens obtained via fiberoptic bronchoscopy. J Exp Clin Cancer Res, 32 (1), 28.

75. Liang J, S. Y. (2013). Estrogen and Cancer. Annu Rev Physiol., 75, 225-40.

76. Lobins R, F. J. (2007). Small cell carcinoma of unknown primary. Semin Oncol, 34 (1), 39-42.

77. Lövgren M, L. H. (2008). Time spans from first symptom to treatment in patients with lung cancer--the influence of symptoms and demographic characteristics. Acta Oncol., 47 (3), 397-405.

78. Lung Cancer: Are we up to the Challenge?2010 Curr Genomics. 117513-8.

79. Lung carcinoma Distribution Overview. (2013). Recuperado el 24 de 7 de 2013, de Cosmic: http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue#sn=lung&ss=all&hn=all&sh=all&in=t&src=tissue

80. ME, R.-A. (2011). Sindrome carcinoide. Revista Mexicana de Anestesiología, 34 (S1), S72-S77.

81. Modlin, I. M. (2008). Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. En The Lancet Oncology (Vol. 9, págs. 61–72). Elsevier.

82. Moran CA, S. S. (2007). Neuroendocrine carcinomas (carcinoid, atypical carcinoid, small cell carcinoma, and large cell neuroendocrine carcinoma): current concepts. Hematol Oncol Clin North Am, 21, 395-407.

83. National Lung Screening Trial Research Team, A. D. (2011). Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. N Engl J Med., 365 (5), 395-409.

84. Nilsson, R. (2011). The molecular basis for induction of human cancers by tobacco specific nitrosamines. Regul Toxicol Pharmacol., 60 (2), 268-280.

85. Novelo V, L. E. (1993). Tumor carcinoide: reporte de 7 casos. Rev. Inst. Nac. Enfermedades Respir, 6 (4), 218-22.

86. Oberg, K. (2011). Neuroendocrine tumors: recent progress in diagnosis and treatment Editorial. Endocrine-Related Cancer, 18 (S1), E3–E6.

87. O'Reilly KM, M. A. (2007). Asbestos-related lung disease. Am Fam Physician., 75 (5), 683-8.

88. Owman, C. B. (1996). Cloning of human cDNA encoding a novel heptahelix receptor expressed in Burkitt's lymphoma and widely distributed in brain and peripheral tissues. Biochem. Biophys. Res. Commun., 228, 285-292.

89. Paez JG, J. P. (2004). EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. Science, 304 (5676), 1497-500.

90. Pelosi G, P. F. (2003). Prognostic implications of neuroendocrine differentiation and hormone production in patients with Stage I nonsmall cell lung carcinoma. Cancer., 97 (10), 2487-97.

91. Phan AT, O. K., & (NANETS)., N. A. (2010). NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the thorax (includes lung and thymus). Pancreas, 39, 784-98.

92. Pinzón B, P. D.-H. (2006). Tumor carcinoide broncopulmonar. Revista Colombiana de Radiología, 17 (2), 1942-1948.

93. PJ, R. (2013). Clinical use of crizotinib for the treatment of non-small cell lung cancer. Biologics., 7, 91-101.

94. Prossnitz ER, A. J. (2008). Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30. Annu Rev Physiol, 70, 165-90.

95. Prossnitz ER, B. M. (2011). The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. Nat Rev Endocrinol., 7 (12), 715-726.

96. Quinn AM, B. F. (2012). Extrapulmonary small cell carcinoma: a clinicopathological study with identification of potential diagnostic mimics. Histopathology, 2012.

97. Quintero J, R. J. (2008). Tumores neuroendocrinos del pulmón. Univ. Méd. Bogotá (Colombia), 49 (3), 413-423.

98. Rekhtman, N. (2010). Neuroendocrine Tumors of the Lung. An Update. Arch Pathol Lab Med, 134, 1628–1638.

99. Revankar, C. C. (2005). A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. Science, 307, 1625-1630.

100. Rickman OB, V. P. (2009). Analysis of ErbB receptors in pulmonary carcinoid tumors. Clin Cancer Res, 15 (10), 3315-24.

101. Rivera MP, M. A. (2013). Establishing the diagnosis of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. Chest., 143 (5 Suppl), e142S-65S.

102. Ryberg D, H. A. (1994). Different susceptibility to smoking-induced DNA damage among male and female lung cancer patients. Cancer Res, 54, 5801-3.

103. Sartelet H, M. K. (2008). Expression of nicotinic receptors in normal and tumoral pulmonary neuroendocrine cells (PNEC). Pathol Res Pract., 204 (12), 891-8.

104. Sekido Y, F. K. (2003). Molecular genetics of lung cancer. Annu Rev Med., 54, 73-87.

105. Sekido Y, F. K. (1998). Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer. Biochim Biophys Acta., 1378 (1), F21-59.

106. Shigematsu H, G. A. (2006). Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. Int J Cancer., 118 (2), 257-262.

107. Siegfried JM, H. P. (2009). Estrogen receptor signaling in lung cancer. Semin Oncol, 36 (6), 524-31.

108. Smith CJ, P. T. (2003). IARC carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and their calculated log P values. Food Chem Toxicol., 41 (6), 807-17.

109. Smith HO, A.-P. H. (2009). GPR30 predicts poor survival for ovarian cancer. Gynecol Oncol, 114 (3), 465-71.

110. Smith HO, L. K. (2007). GPR30: a novel indicator of poor survival for endometrial carcinoma. Am J Obstet Gynecol, 196 (4), 386.

111. Swarts DR, R. F. (2012). Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: evidence for separate biological entities. Biochim Biophys Acta., 1826 (2), 255-71.

112. Travis WD, C. T. (1999). Histological typing of lung and pleural tumours. En W. H. WHO, & S. LH (Ed.), WHO International histological classification of tumours. (3rd ed., págs. 7-9). Berlin, The spectrum of neuroendocrine tumours.: Springer-Verlag.

113. Travis WD, R. N. (2011). Pathological diagnosis and classification of lung cancer in small biopsies and cytology: strategic management of tissue for molecular testing. Semin Respir Crit Care Med, 32 (1), 22-31.

114. Vanhecke E, V. A. (2013). 19q13-ERCC1 Gene Copy Number Increase in Non-Small-Cell Lung Cancer. Clin Lung Cancer., 14 (S), 1525-7304.

115. Wang D, H. L. (2010). G protein-coupled receptor 30 in tumor development. Endocrine., 38 (1), 29-37.

116. WD., T. (2010). Advances in neuroendocrine lung tumors. Ann Oncol. (Suppl 7), vii65-71.

117. WD., T. (2009). Lung tumours with neuroendocrine diffe rentiation. Eur J Cancer, 45 (Suppl 1), 251-66.

118. WHO, W. H. (2004). Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. (3rd ed., Vol. 10). (B. E.-H. Travis WD, Ed.) Lyon, France: IARC Press.

119. Wisnivesky JP, Y. R. (2013). Diagnosis and treatment of bronchial intraepithelial neoplasia and early lung cancer of the central airways: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. Chest., 143 (5 Suppl), e263S-77S.

120. World Health Organization. (17 de 1 de 2013). WHO/CANCER. Recuperado el 15 del 6 de 2013, de http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/

121. Wu J, W. C. (2012). Identification, characterization and application of a G-quadruplex structured DNA aptamer against cancer biomarker protein anterior gradient homolog 2. PLoS One., 7 (9), e46393.

122. Yao JC, H. M. (2008). One hundred years after carcinoid: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. J Clin Oncol. 2008, 26 (18), 3063-3072.

123. Yilmaz A, D. E. (2008). Delays in the diagnosis and treatment of primary lung cancer: are longer delays associated with advanced pathological stage? Ups J Med Sci., 113 (3), 287-96.

124. Yu Tseng F, J. C. (2006). Causas más frecuentes de nódulo pulmonar solitario y su relación con el cáncer pulmonar. Acta méd. costarric, 48 (2), 84-87.