

G.I.P.A.D.

Gruppo Italiano Patologi dell'Apparato Digerente

Linee guida e criteri diagnostici minimi per la diagnosi istologica dei tumori endocrini del tratto gastroenteropancreatico

G.RINDI* **, C.CAPELLA*, C.BORDI**, E.SOLCIA******

*Dipartimento Materno-Infantile e Tecnologie Biomediche, Sezione di Anatomia Patologica, Università di Brescia.

**Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Anatomia Patologica, Università di Parma.

***Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università dell'Insubria, Varese

****Dipartimento di Patologia Umana ed Ereditaria, Sezione di Anatomia Patologica, Università di Pavia.

Corrispondenza a:

Guido Rindi
Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio
Università di Parma
Sezione di Anatomia Patologica
Via A. Gramsci, 14
I-43100 Parma, Italy
Tel. +39-0521-991636
Fax +39-0521-292710
e-mail: guido.rindi@unipr.it

Nota a piè pagina:

Le precedenti pubblicazioni sui requisiti diagnostici minimi in patologia dell'apparato digerente, patrocinate dal G.I.P.A.D., sono reperibili su Pathologica 1997;89:592-597 (Caruso M.L., Fiocca R.: Gastriti croniche), 1998;90:176-182 (Guido M., Faa G.: Epatiti croniche), 1998;90:467-473 (Lapertosa G., Parenti A.: Esofagiti ed esofago di Barrett), 1998;90:809-813 (Chiarelli S., Villanacci V.: Celiachia), 1999;91:42-48 (Cornaggia M., Capella C., Grigioni W.: Malattie infiammatorie croniche idiopatiche intestinali), 1999;91:286-294 (Zamboni G., Lanza G., Risio M.: Adenoma-adenocarcinoma del retto), 2000;92:210-220 (Roncalli M., David E., Gentile A., Pollice L.: Lesioni nodulari del fegato), 2001;93:61-70 (Dogliani C., Savio A., Ranaldi R., Magrini U.: Linfomi gastrici).

Riassunto

Le neoplasie endocrine del tratto gastrointestinale e del pancreas possono essere di difficile interpretazione. La recente classificazione istopatologica dei tumori endocrini fornita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (O.M.S.) ha di fatto introdotto nuovi criteri interpretativi, classificativi e diagnostici. Il presente lavoro si ripromette di tracciare linee guida per la diagnosi di tumore endocrino dell'apparato digerente che siano coerenti con la nuova classificazione O.M.S. e di semplice applicazione nella pratica istopatologica routinaria.

Summary

The endocrine tumors of the pancreas and the gastrointestinal tract may be of difficult interpretation. The recent histopathological classification of the endocrine tumors by the World Health Organization (W.H.O.) introduced new criteria for the interpretation, classification and diagnosis. The present paper aims at defining simple guidelines for the practical, routine approach to the histopathological diagnosis of the endocrine tumors of the digestive system according to the new W.H.O. criteria.

Titolo breve: Tumori endocrini gastroenteropancreatici

Running title: GEP endocrine tumours.

Premessa

I tumori endocrini del tratto gastroenteropancreatico sono una patologia riconosciuta in crescita nelle ultime tre decadi [6-8]. Questo fenomeno probabilmente riflette l'ampia diffusione dell'endoscopia e l'introduzione nella pratica diagnostica e clinica di nuovi potenti mezzi diagnostici quali la cromogranina A e gli analoghi della somatostatina, questi ultimi utili sia per l'imaging in vivo delle neoplasie endocrine sia per il loro trattamento anche in medicina nucleare [4, 16]. Di fatto, più di frequente rispetto ad un vicino passato, il patologo si trova di fronte alla possibile diagnosi di proliferazione neoplastica endocrina. Questa diagnosi è spesso problematica, soprattutto per quanto riguarda il variabile potenziale maligno di tale multifforme patologia tumorale. Questa consapevolezza è purtroppo non infrequentemente accompagnata dalla scarsa conoscenza dei protocolli terapeutici in uso [18] in parte dovuta alla loro scarsa standardizzazione.

Partendo da precedenti proposte [2, 5, 10, 12, 15] è stata recentemente elaborata e pubblicata la classificazione istopatologica dei tumori endocrini dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (O.M.S.) [17]. Questo articolo si propone di fornire semplici linee guida per l'applicazione pratica di questa classificazione che consentano una ragionevole sicurezza nell'affrontare tale patologia neoplastica. La trattazione verrà suddivisa in principi generali, approccio diagnostico alla piccola biopsia endoscopica od al campione chirurgico e schema di diagnosi standard (checklist).

Principi generali

L'iter diagnostico per i tumori endocrini segue la prassi generale, comune a diverse altre patologie specialistiche, delle due fasi che prevedono **a)** l'orientamento diagnostico su base esclusivamente morfologica e formulato sul preparato standard ematossilina ed eosina (EE), e **b)** la verifica diagnostica mediante l'identificazione di marcatori specifici di differenziazione neuroendocrina con tecniche speciali.

Fase a) La capacità di raggiungere una diagnosi di presunzione sulla base dell'EE riflette il bagaglio squisitamente personale delle competenze di ciascun patologo, che può avere maggior o minor dimestichezza con tale patologia specialistica. Obiettivo principale di questa fase è di separare i tumori endocrini da neoplasie d'altra origine e di identificare all'interno dei tumori endocrini quelli ben differenziati rispetto a quelli scarsamente differenziati [17].

Tumori endocrini ben differenziati. Le caratteristiche dei tumori endocrini ben differenziati si suddividono in strutturali e citologiche. La struttura del tumore endocrino ben differenziato può essere di tipo solido con nidi in genere di piccole, medie dimensioni, trabecolare con nastri cellulari in singolo o, più raramente, in doppio o multiplo strato, o talora di tipo ghiandolare con formazione di strutture con lume vero, od anche pseudoghiandolare, con distribuzione di una rima cellulare a circondare uno spazio vascolare od un asse fibrovascolare [14]. Si possono osservare inoltre aree solide risultanti dal compattamento più o meno marcato di trabecole e cordoni, oppure tumori con aspetti che variano la struttura da campo a campo. Infine non è infrequente il riscontro di tumori con strutture complesse ove si possono riconoscere tutti le strutture principali sopra descritte [14]. Si noti che le caratteristiche di struttura variano a seconda della sede di insorgenza, ad esempio sono tipicamente trabecolari i tumori endocrini del retto-sigma, mentre la struttura a nidi solidi si osserva frequentemente nei tumori del piccolo intestino e dell'appendice .

La citologia è contraddistinta da un tipico monomorfismo cellulare, caratterizzata da elementi di medie dimensioni, con citoplasma relativamente abbondante, talora eosinofilo e finemente granulato, e nuclei regolari con cromatina a zolle, nucleoli talora evidenti, ma raramente prominenti, e rare mitosi. E' consigliabile la valutazione dell'indice mitotico per dieci campi ad alto ingrandimento (HPF, x400), valutando da 10 a 40 campi. Atipie citologiche apparentemente anche severe, con cellule di grosse dimensioni e nuclei grossolanamente irregolari, possono osservarsi in neoplasie di più ampie dimensioni e, specie in aree solide, associate a cellule in apoptosi con nuclei ipercromatici e "raggrinzimento" del profilo cellulare. Queste alterazioni appaiono riconducibili a fenomeni "regressivi", più che riflettere un'autentica anaplasia neoplastica. Nell'insieme è

caratteristico del tumore endocrino ben differenziato un livello di atipia definibile come lieve, o tutt'al più moderata, in presenza di rare mitosi. Va ricordato che neoplasie endocrine con basso numero di mitosi (da 0 ad 1 per 10HPF) e basso indice di proliferazione per Ki67 hanno un comportamento clinico benigno, mentre neoplasie con 2-9 mitosi per 10HPF si sono dimostrate avere un aumentato rischio di comportamento maligno[5, 10, 12]. Questo quadro assolutamente tipico rende in genere facilmente distinguibile il tumore endocrino ben differenziato da altra patologia epiteliale neoplastica del tratto gastroenterico e del pancreas.

In questa fase diagnostica è opportuno inoltre valutare alcuni aspetti istologici di malignità a possibile significato predittivo, quali l'invasività di tessuti vicini o della capsula se presente, dei vasi ematici e degli spazi perineurali oltre che, evidentemente, la presenza di metastasi. La linfoinvasione è spesso di difficile accertamento ed il suo significato prognostico appare limitato. Il riscontro di necrosi, specie se associato a struttura solida, è altamente sospetto, anche se non esclusivo, del carcinoma endocrino scarsamente differenziato (vedi sotto). Peraltro, è stato dimostrato che i criteri clinico-patologici di malignità dei tumori endocrini sono in parte organo-specifici e, per tale motivo, si rimanda alla consultazione del "blue book" dell'O.M.S. per una loro analisi più dettagliata [17]. Va ricordato che l'O.M.S. non fornisce comunque parametri cito/istologici assoluti che consentano la differenziazione tra tumore endocrino ben differenziato con comportamento benigno e carcinoma endocrino ben differenziato maligno, l'unico criterio essendo esclusivamente quello clinico della comprovata capacità metastatica o l'invasione della tonaca muscolare e/o dei tessuti adiacenti. Limitatamente a stomaco e pancreas, sono stati comunque tentativamente definiti alcuni sistemi di *grading* istologico (vedi LaRosa et al. 1996 e Rindi et al. 1999) [5, 12].

La conclusione di questa fase di esame preliminare del vetrino porta alla diagnosi di “tumore o carcinoma endocrino ben differenziato” su base puramente morfologica. Se in diverse sedi anatomiche ed in particolari contesti clinici questo approccio appare essere il più ragionevole, in

altre si devono necessariamente considerare diagnosi alternative che comprendono prevalentemente neoplasie epiteliali esocrine quali, per esempio, il tumore a cellule acinari del pancreas od il tumore solido pseudopapillare del pancreas l'adenocarcinoma della regione duodenopancreatica, o, più raramente, neoplasie ad origine stromale con struttura e cellularità prevalente simil-epiteliale. Per la diagnosi differenziale con tali patologie si rimanda a trattazioni specialistiche [1, 5, 10, 11, 16]. A questo punto è opportuno trovare conferma a questa diagnosi morfologica mediante tecniche istochimiche ed immunoistochimiche (vedi **Fase b**).

Carcinomi endocrini scarsamente differenziati. Se la diagnosi di tumore endocrino ben differenziato è sostenuta positivamente dalle caratteristiche strutturali e citologiche sopra brevemente descritte, il sospetto di tumore endocrino è di ben più difficile formulazione nel caso di neoplasie scarsamente differenziate, rappresentate dal carcinoma endocrino poco differenziato (a piccole od a grandi cellule). Le caratteristiche di tali neoplasie si suddividono in strutturali e citologiche. La struttura del carcinoma endocrino scarsamente differenziato è tipicamente solida con più o meno abbondanti aree di necrosi, frequentemente centrali rispetto agli zaffi tumorali. In varie sedi quale il pancreas, lo stomaco il duodeno ed il colon si possono osservare neoplasie che, oltre ad aspetti solidi, presentano anche aree a struttura simil-trabecolare così da suggerire una possibile differenziazione endocrina. Le caratteristiche citologiche sono quelle di neoplasie epiteliali ad alto grado, con cellule di dimensioni grandi o medio-piccole, a volte con caratteri tipo carcinoma a piccole cellule. Il citoplasma è talora evidente ed eosinofilo ma più spesso in rima sottile, le atipie nucleari sono severe con frequenti mitosi anche atipiche. La valutazione dell'indice mitotico per dieci campi ad alto ingrandimento è invariabilmente molto elevata ed in genere superiore al 10% delle cellule [5, 10, 12].

In conclusione, la diagnosi presuntiva di carcinoma endocrino scarsamente differenziato è talvolta difficilmente formulabile, specie in presenza di forme miste con differenziazione ghiandolare. Gli aspetti solidi a piccole cellule con necrosi centrale tipo "carta geografica"

dovrebbero comunque suggerire la possibilità di questa diagnosi, che va necessariamente sostenuta con la dimostrazione di positività ai marcatori di differenziazione neuroendocrina.

Fase b). Fase comune per entrambi i sospetti diagnostici sopra formulati prevede l'applicazione di tecniche immunoistochimiche per la dimostrazione dell'espressione di antigeni di differenziazione neuroendocrina ed, ove necessario, di tecniche istochimiche per dimostrare l'assenza di produzione di mucine (metodo PAS, o PAS-AB per le mucine gastrointestinali). Nei tumori endocrini puri i risultati attesi prevedono, in tutte le cellule tumorali, la positività intensa e diffusa per uno o più marcatori neuroendocrini e l'assenza di PAS-AB positività. La valutazione del PAS/PAS-AB può rivelare nelle piccole biopsie endoscopiche fenomeni di diffusione di mucine, specie nelle parti superficiali del campione ove la mucosa normale si continua con aree di infiltrazione neoplastica, od in aree profonde, ove la neoplasia appare inglobare cripte ghiandolari normali. Inoltre una diffusa PAS positività si osserva necessariamente nelle fibre di collagene neoformato, reperto non infrequente in queste neoplasie. La PAS/PAS-AB positività vera, e cioè identificata nel citoplasma di tutte o di una frazione delle cellule neoplastiche, in presenza contestuale di positività per i marcatori neuroendocrini (vedi sotto), deve orientare la diagnosi verso le rare forme miste endocrine-esocrine, ben differenziate relativamente non infrequenti per esempio a livello appendicolare, o scarsamente differenziate possibili a tutti i livelli del tratto gastrointestinale.

La dimostrazione di marcatori neuroendocrini va effettuata secondo tecniche immunoistochimiche standard. Si noti che per tali antigeni, a differenza delle neoplasie in oggetto, più appropriatamente denominate endocrine, l'aggettivo qualificante "neuroendocrino" resta valido poiché tali antigeni sono invero presenti nel sistema endocrino e nel sistema nervoso. Una trattazione approfondita di questo argomento esula dagli scopi del presente lavoro, si suggerisce comunque di far riferimento alla letteratura specializzata (per una revisione dell'argomento vedi Papotti et al. 2000)[9]. In termini pratici, un gruppo di anticorpi maneggevole e certamente alla

portata economica della maggioranza delle istituzioni sanitarie comprende sieri od anticorpi monoclonali per l'identificazione di **cromogranina A**, antigene del granulo/vescicola endocrina, **sinaptofisina**, antigene della vescicola similisnaptica, l'enolasi neuronone-specifica (**NSE**) ed il protein-gene-product 9.5 (**PGP 9.5**), antigeni citosolici delle cellule endocrine.

In accordo con i criteri forniti dalla classificazione dell'O.M.S., i tumori endocrini, sia ben differenziati sia scarsamente differenziati, per essere definiti tali devono essere uniformemente composti da cellule neoplastiche con profilo endocrino. Pertanto, nelle neoplasie endocrine ben differenziate, l'immunoreattività attesa è diffusa, anche se con intensità variabile, per tutti i marcatori citati, mentre nelle neoplasie scarsamente differenziate è attesa positività diffusa ed in genere intensa esclusivamente per la sinaptofisina e per i marcatori citosolici. Nei carcinomi endocrini scarsamente differenziati la perdita di differenziazione si associa alla perdita, sovente completa, di immunoreattività per la cromogranina A, che riflette la perdita di granuli endocrini. Va rilevato tuttavia che anche in alcuni tumori endocrini ben differenziati, in particolare nel retto, si può rilevare negatività per la cromogranina A. Questo fenomeno di fatto non riflette uno stato di scarsa differenziazione delle cellule tumorali, con perdita dei granuli secretori, come dimostrato dall'abbondante produzione di ormoni specifici quali glicentina e PYY [3]. Alla luce di questa evenienza è buona pratica fare uso di più di un marcatore del panel suggerito. A maggior ragione nel caso di neoplasie endocrine scarsamente differenziate, è buona pratica basare la propria diagnosi sull'identificazione certa di almeno due dei tre marcatori attesi (sinaptofisina, NSE o PGP 9.5). Va rilevato che, in genere, dei marcatori citati la sinaptofisina si dimostra essere il marcatore più efficiente ed affidabile nello smascherare la differenziazione endocrina.

Sulla base della nuova classificazione O.M.S. la tipizzazione dei tumori endocrini ben differenziati prevede l'identificazione del tipo cellulare prevalente mediante sieri per marcatori ormonali specifici per citotipo. Il costo di questi reagenti relativo anche alla rarità della loro eventuale applicazione rende consigliabile l'effettuazione di queste indagini in centri di riferimento che ne abbiano pratica.

Infine, in applicazione delle linee guida dell'O.M.S., al gruppo differenziativo di marcatori sopra riportato vanno aggiunti i test immunohistochimici per il marcatore di proliferazione Ki67 per effettuare un'efficace valutazione della quota proliferativa (in percentuale per 1000-2000 cellule o per dieci HPF) e per la proteina p53 per evidenziarne un eventuale accumulo/iperespressione, peraltro presente quasi esclusivamente nei carcinomi scarsamente differenziati o nei carcinomi.

Approccio diagnostico alla piccola biopsia

I reperti più frequenti riguardano nell'ordine le biopsie endoscopiche di stomaco e colon-retto ed agobiopsie epatiche per masse sospette per secondarietà.

Notizie cliniche

▪ I dati irrinunciabili, di fatto organo-dipendenti, riguardano sostanzialmente la motivazione che spinge il paziente alla visita specialistica e la descrizione del quadro osservato con le tecniche di immagine (referto ECO, TAC, RMN od altro), o con tecniche endoscopiche. In questa fase, raramente si possono avere dati riguardanti marcatori biumorali circolanti di rilevanza per la diagnosi di tumore endocrino, a meno che il paziente non sia a conoscenza di una propria predisposizione familiare del tipo malattia neoplastica multiendocrina (MEN).

Pratica

▪ Il materiale va processato per routine con tutti gli accorgimenti che richiedono normalmente le piccole biopsie (fissazione breve, orientamento corretto, rapida processazione in paraffina, etc), ma soprattutto tentando di ridurre al massimo la perdita di materiale. Al sospetto formulato in **Fase a)** va seguito l'allestimento di preparati istochimici ed immunohistochimici come da **Fase b)**. La diagnosi raggiunta è di tipo non specifico e, se si richiede una diagnosi di tipo cellulare della neoplasia, si consiglia l'invio del materiale a Centri di riferimento regionali che possiedano i marcatori ormonali specifici dell'organo in studio.

- Per agobiopsie epatiche il quesito diagnostico frequente è la sede di origine della metastasi.

Nel caso di neoplasie endocrine ben differenziate questa informazione può essere presuntivamente fornita solo identificando il tipo cellulare endocrino proliferante. In pratica, l'identificazione di un tipo cellulare endocrino specifico di un organo può suggerire la sede di origine della metastasi. Per esempio l'identificazione di cellule produttrici di serotonina o cellule enterocromaffini (EC) può suggerire un'origine intestinale (piccolo intestino distale preferibilmente) della metastasi. Va comunque raccomandata cautela in questa diagnosi di presunzione vista l'ampia variabilità di espressione ormonale osservata nei carcinomi endocrini ben differenziati. Nel caso di neoplasie endocrine scarsamente differenziate questa informazione non può essere data.

- Per prese biotiche del tratto gastrointestinale, è talvolta difficile se non impossibile la

valutazione di alcuni parametri quali l'invasione sottomucosa o la completezza dell'asportazione.

Nel caso di lesioni gastriche queste informazioni possono essere fornite attraverso indagini di ecoendoscopia. Va rilevato che alcune di queste neoplasie, specie nello stomaco, possono evocare proliferazione connettivale che rende particolarmente difficoltosa l'identificazione della sottomucosa.

- La diagnosi di tumore endocrino ben differenziato su piccolo campione biotico comporta

atteggiamenti clinici diversi a seconda dei distretti da cui il campione proviene e perciò si rimanda alle linee guida dell'O.M.S. [17]. La diagnosi di carcinoma endocrino scarsamente differenziato comporta di regola un atteggiamento clinico-terapeutico proprio di patologia neoplastica altamente aggressiva.

Approccio diagnostico al campione chirurgico

Notizie cliniche

- I dati forniti riflettono il livello di studio del paziente effettuato dal clinico. Queste

informazioni in genere sono fornite nel caso di sindromi iperfunzionali riconosciute, quali le sindromi da carcinoide o da ipersecrezione di insulina, gastrina, glucagone e VIP [16], ma ben più

raramente in presenza di neoplasie non associate a sindromi clinicamente definite. In condizioni ottimali il paziente dovrebbe comunque giungere al tavolo operatorio con una diagnosi di relativa certezza e con quel corredo di analisi chimico-cliniche, radiologiche e scintigrafiche (Octreoscan) indicative di malattia neoplastica endocrina. Di fatto, nella pratica corrente, questo spesso non avviene, vuoi per interventi in urgenza, vuoi per l'impossibilità di giungere ad una diagnosi istologica preventiva (magari per la non accessibilità della lesione), vuoi perché questa possibile diagnosi non è stata presa in considerazione. I dati clinici che dovrebbero essere forniti sono comunque organo-specifici (vedi O.M.S.) [17].

Pratica

- Valgono tutte le regole generali di campionamento d'organo [13]. In particolare, ed in specie per organi parenchimatosi quali fegato e pancreas, è sempre buona pratica ridurre il campione in fette sottili di circa cm. 0.5 per consentire un'adeguata e tempestiva penetrazione del fissativo. La fissazione in formalina di routine che sia adeguata per durata e per penetrazione tissutale consente infatti una buona preservazione di gran parte degli antigeni tissutali che verranno poi studiati. In caso di materiale abbondante è raccomandabile associare anche la fissazione in liquido di Bouin che consente una migliore preservazione degli antigeni polipeptidici intracitoplasmatici. Se il campione chirurgico viene inviato con diagnosi già effettuata di neoplasia endocrina, è buona pratica prevedere il campionamento di materiale fresco, tessuto normale e tessuto neoplastico, da conservare in congelatore per possibili ulteriori studi e, ove disponibile un microscopio elettronico, prevedere il prelievo di materiale neoplastico per studi ultrastrutturali.

- Il campione chirurgico consente di valutare una serie di parametri (vedi **Fase a**) utili alla corretta stadiazione anatomopatologica del campione [5, 10-12]. Come per le piccole biopsie, la diagnosi raggiunta con il panel suggerito in **Fase b** è di tipo non specifico e se è richiesta una diagnosi di tipo cellulare è consigliabile l'invio del materiale a Centri di riferimento regionali. In particolare a seconda delle sindromi cliniche iperfunzionali eventualmente presenti, è necessario

dimostrare cellule tumorali capaci di produrre l'ormone determinante i sintomi, per esempio cellule produttrici serotonina, tipo EC, per la sindrome da carcinoide, cellule produttrici gastrina, tipo G, per la sindrome di Zollinger-Ellison, etc.. Va rilevato che anche sottopopolazioni tumorali minoritarie spesso rendono ragione della sindrome clinica.

Schema di diagnosi standard (checklist)

Descrizione macro

- Varia da tessuto a tessuto e segue gli schemi standard.

Descrizione micro

- descrizione della struttura e della citologia;
- indicazione dell'indice mitotico (per 10 HPF almeno 40 campi valutati ove possibile) e dell'indice proliferativo per Ki67 in percentuale o per 10HPF;
- descrizione ove possibile, di parametri di malignità istologici (angio-linfoinvasione, invasione perineurale, presenza di necrosi, infiltrazione della eventuale capsula, della parete gastrointestinale o di organi e tessuti vicini);
- descrizione dei reperti immunohistochimici;
- descrizione delle eventuali metastasi presenti;
- descrizione di altri reperti eventualmente presenti (pancreatiti croniche, patologie mucosali flogistiche e non, altre lesioni neoplastiche od iperplastiche, etc.);
- note (opzionali) comprensive di tutti i suggerimenti per un eventuale ricampionamento, per dosaggi di marcatori circolanti o per indagini di imaging.

Conclusione diagnostica

- diagnosi secondo le categorie indicate da O.M.S. con indicazione del potenziale maligno della lesione.

Bibliografia

1. Appelman HD (1998) Mesenchymal tumors of the gastrointestinal tract. In: Ming S-C and Goldman H (eds) Pathology of the Gastrointestinal Tract. Williams & Wilkins, Baltimore, London, Tokyo
2. Capella C, Heitz PU, Hofler H, Solcia E, Kloppel G (1995) Revised classification of neuroendocrine tumours of the lung, pancreas and gut. *Virchows Arch* 425: 547-560
3. Fiocca R, G. R, Capella C, Grimelius L, Polak JM, Schwartz TW, Yanaihara N, Solcia E (1987) Glucagon, glicentin, proglucagon, PYY, PP and proPP-icosa-peptide immunoreactivities of rectal carcinoid tumours and related non-tumour cells. *Reg Pep* 17: 9-29
4. Krenning EP, de Jong M, Kooij PPM, Breeman WAP, Bakker WH, de Herder WW, van Ejjick CHJ, Kwekkeboom DJ, Jamar F, Pauwels S, Valkema R (1999) Radiolabeled somatostatin analogues for peptide receptor scintigraphy and radionuclide therapy. *Ann Oncol* 10: S23–S29
5. La Rosa S, Sessa F, Capella C, Riva C, Leone BE, Klersy C, Rindi G, Solcia E (1996) Prognostic criteria in nonfunctioning pancreatic endocrine tumours. *Virchows Arch* 429: 323-33
6. Levi F, Te VC, Randimbison L, Rindi G, La Vecchia C (2000) Epidemiology of carcinoid neoplasms in Vaud, Switzerland, 1974-97. *Br J Cancer* 83: 952-5
7. Modlin IM, Sandor A (1997) An analysis of 8305 cases of carcinoid tumors. *Cancer* 79: 813–829
8. Newton JN, Swerdlow AJ, dos Santos Silva IM, Vessey MP, Grahame-Smith DG, Primatesta P, Reynolds DJM (1994) The epidemiology of carcinoid tumours in England and Scotland. *Br J Cancer* 70: 939–942

9. Papotti M, Volante M, Bongiovanni M, Pecchioni C, Bussolati G (2000) Diagnosi di tumori (neuro)endocrini: una breve rassegna pratica tra nuove classificazioni e nuovi marcatori. *Pathologica* 92: 562-568
10. Pelosi G, Bresaola E, Bogina G, Pasini F, Rodella S, Castelli P, Iacono C, Serio G, Zamboni G (1996) Endocrine tumors of the pancreas: Ki-67 immunoreactivity on paraffin sections is an independent predictor for malignancy: a comparative study with proliferating-cell nuclear antigen and progesterone receptor protein immunostaining, mitotic index, and other clinicopathologic variables. *Hum Pathol* 27: 1124-1134
11. Rindi G, Luinetti O, Cornaggia M, Capella C, Solcia E (1993) Three subtypes of gastric argyrophil carcinoid and the gastric neuroendocrine carcinoma: a clinicopathologic study [see comments]. *Gastroenterology* 104: 994-1006
12. Rindi G, Azzoni C, La Rosa S, Klersy C, Paolotti D, Rappel S, Stolte M, Capella C, Bordi C, Solcia E (1999) ECL cell tumor and poorly differentiated endocrine carcinoma of the stomach: prognostic evaluation by pathological analysis. *Gastroenterology* 116: 532-42
13. Rosai J (1996) *Ackerman's Surgical Pathology*, Eight edn. Mosby, St.Louis, Baltimore, Boston
14. Soga J, Tazawa K (1971) Pathologic analysis of carcinoids; histologic reevaluation of 62 cases. *Cancer* 28: 990-998
15. Solcia E, Capella C, Klöppel G (1997) *Tumours of the pancreas*, Third Series edn. Armed Force Institute of Pathology, Washington D.C.
16. Solcia E, Capella C, Fiocca R, Sessa F, LaRosa S, Rindi G (1998) Disorders of the endocrine system. In: *Pathology of the gastrointestinal tract*. In: S.C. Ming HG (ed) *Pathology of the gastrointestinal tract*. Williams and Wilkins, Philadelphia, pp 295-322
17. Solcia E, Klöppel G, Sobin LH (2000) *Histological typing of endocrine tumours.*, 2 edn. Springer-Verlag, New York

18. Wiedenmann B, Jensen RT, Mignon M, Modlin CI, Skogseid B, Doherty D, Öberg K (1998)
Preoperative diagnosis and surgical management of neuroendocrine gastroenteropancreatic
tumors: general recommendations by a consensus workshop. *World J Surg* 22: 309-318

Ringraziamenti

Il presente lavoro e' stato in parte finanziato dalle Università di Brescia (GR), Insubria (CC),
Parma (CB) e Pavia (ES), dal Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica
(MURST) (GR e CB) e dal Ministero della Sanità all'IRCCS Policlinico San Matteo (ES).