



Universidad de Oviedo

Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias

Hospital Universitario Central de Asturias

Máster en biomedicina y oncología molecular

**Valor pronóstico de los marcadores de diferenciación
neuroendocrinos e intestinales en los adenocarcinomas
nasosinusales**

Autor: Viviana Andrea Albarran Arias

Tutor: Jose Luis Llorente Pendas

Cotutora: Rocio Garcia Marín

Fecha: 21 de Mayo de 2025

Trabajo de Fin de Máster

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Anatomía de la Cavity Nasal y Senos Paranasales.....	3
1.2 Adenocarcinoma Nasosinusal.....	4
1.3 Adenocarcinoma de Tipo Intestinal.....	5
1.3.1 Epidemiología.....	5
1.3.2 Etiopatogenia.....	6
1.3.3 Histopatología.....	6
1.3.4 Fisiopatología y Marcadores Moleculares.....	8
1.3.5 Marcadores de Diferenciación Intestinal.....	8
1.3.6 Marcadores Neuroendocrinos.....	9
1.3.7 Alteraciones Moleculares y Genéticas.....	9
1.3.8 Manifestaciones Clínicas.....	10
1.3.9 Tratamiento.....	10
1.3.10 Pronóstico.....	11
2. HIPÓTESIS.....	11
3. OBJETIVOS.....	12
3.1 Objetivo General.....	12
3.2 Objetivos Específicos.....	12
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	12
4.1 Pacientes y Muestra.....	12
4.2 Inmunohistoquímica.....	13
4.3 Análisis Estadístico De Las Muestras.....	14
5. RESULTADOS.....	15
6. DISCUSIÓN.....	31
7. CONCLUSIÓN.....	34
8. BIBLIOGRAFÍA.....	35

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Anatomía de la Cavity Nasal y Senos Paranasales

La cavidad nasal es una estructura compleja que se encuentra dividida en dos mitades por el septum nasal. Estas cavidades se extienden desde las narinas en su extremo anterior hasta las coanas en el extremo posterior, donde se comunican con la nasofaringe. Cada una puede subdividirse en dos regiones: el vestíbulo nasal y la cavidad nasal propiamente dicha. El vestíbulo nasal constituye la porción más anterior de la cavidad nasal. Está delimitado lateralmente por el ala de la nariz y medialmente por la parte cartilaginosa anterior del septum. Esta región se encuentra revestida por epidermis y contiene vibrissas (pelos) y glándulas sebáceas. La cavidad nasal propiamente dicha presenta una organización anatómica que comprende una pared medial, una pared lateral, un techo y un piso. La pared medial está formada por el septum nasal, cuya porción anterior es cartilaginosa y la posterior es ósea. La pared lateral es más compleja, con inclinación medial en su parte superior. El techo se divide en tres porciones: una anterior frontonasal, una central cribosa (formada por la lámina cribosa del etmoides, atravesada por fibras del nervio olfatorio), y una posterior esfenoidal. El piso de la cavidad nasal está constituido por el proceso palatino del hueso maxilar, la lámina horizontal del hueso palatino y el paladar blando. En la pared lateral se encuentran tres proyecciones óseas denominadas cornetes: superior, medio e inferior. Los cornetes superior y medio forman parte del hueso etmoides, mientras que el cornete inferior es un hueso independiente. Estos cornetes delimitan tres conductos denominados meatos (superior, medio e inferior), a través de los cuales drenan diversas estructuras sinusales. El meato inferior comunica anteriormente con el conducto nasolagrimon. En el meato medio desembocan el seno maxilar, el seno frontal y las celdillas etmoidales anteriores y medias, mientras que el meato superior recibe las celdillas etmoidales posteriores. Por encima del cornete superior se localiza el recesso esenoetmoidal, en el cual drena el seno esfenoidal, (1) (**Figura 1**).

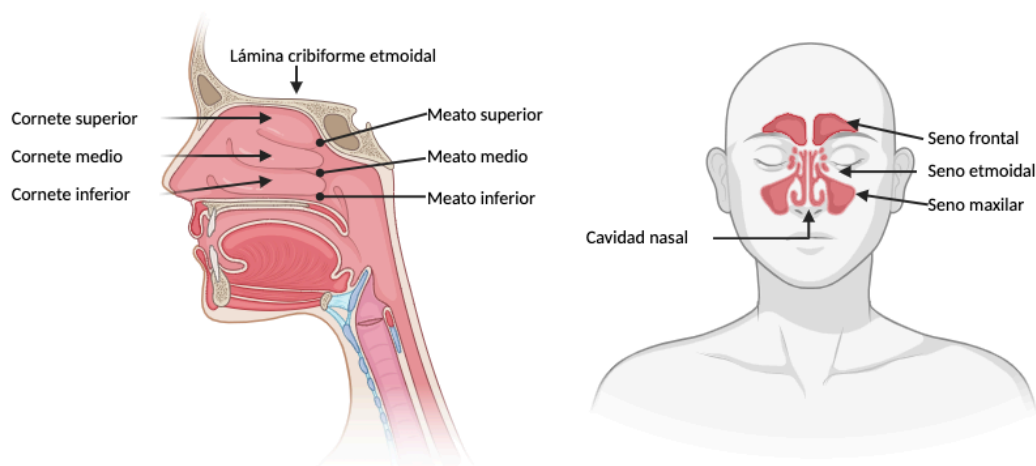


Figura 1: Anatomía de la cavidad nasal y los senos paranasales. Figura propia.

1.2 Adenocarcinoma Nasosinusal

En la cavidad nasosinusal se originan una gran variedad histológica de tumores que constituyen el 5% de los tumores de cabeza y cuello, siendo los de origen epitelial la forma predominante. Los subtipos de tumores epiteliales más comunes son el carcinoma nasosinusal de células escamosas (SNSCC) que representa la forma más frecuente (80%) y predominan en el seno maxilar y la cavidad nasal y los adenocarcinomas nasosinuales (ACNS) que representan el 20% (6). Los ACNS son neoplasias epiteliales raras, originadas en las fosas nasales y los senos paranasales, que se caracterizan por presentar estructuras glandulares (2) y constituyen menos del 3% de los tumores de cabeza y cuello (3). Tienen una incidencia mundial de aproximadamente 1 caso por cada 100.000 habitantes al año y la edad promedio de presentación es de entre 50 y 60 años. Los ACNS son la segunda neoplasia maligna más común de la región nasosinusal y representan entre el 10% y el 20% de todas las neoplasias malignas nasosinuales. Se originan en el epitelio superficial o en las glándulas seromucosas de la mucosa nasosinusal, y el sitio más frecuentemente afectado es el seno etmoidal, seguido del seno maxilar y la cavidad nasal (1).

Según la clasificación histológica de la OMS (4), se reconocen dos categorías principales: adenocarcinoma de tipo intestinal (ITAC) que generalmente se localizan en el surco olfatorio de los senos etmoidales y adenocarcinoma de tipo no intestinal

(No- ITAC) que se presentan principalmente en la cavidad nasal y en los senos maxilares (**Figura 2**).

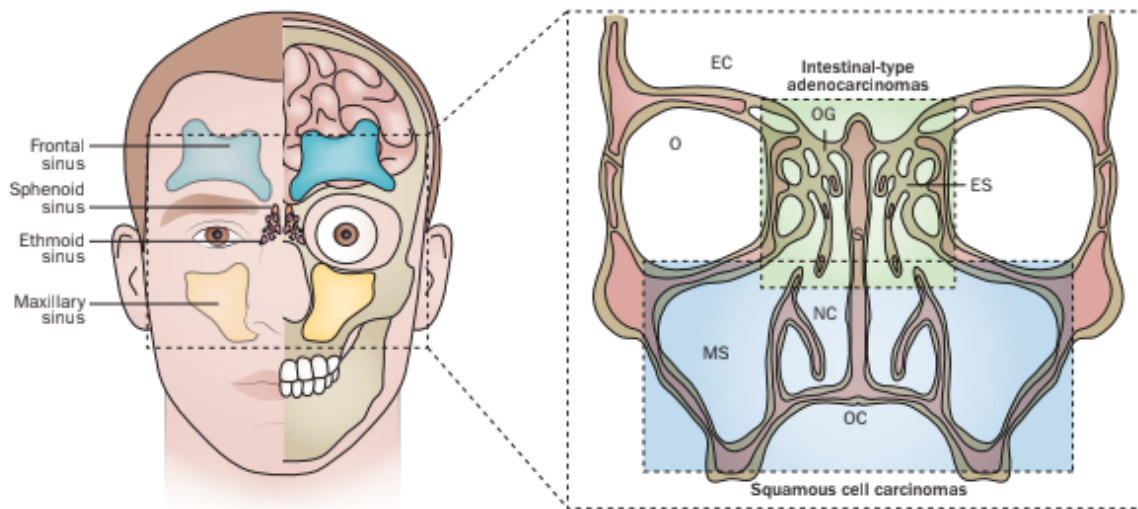


Figura 2: Visión esquemática de la distribución de los principales tipos de tumores sinusales. EC: endocráneo; ES: senos etmoidales; MS: seno maxilar; NC, cavidad nasal; O, órbita; OC, cavidad oral; OG, surco olfatorio; S, tabique nasal. Figura tomada de Llorente JL.et al., 2014.

1.3 Adenocarcinoma de Tipo Intestinal

El adenocarcinoma de tipo intestinal (ITAC) es una neoplasia maligna epitelial que en ocasiones es indistinguible de los adenocarcinomas o adenomas de origen intestinal y consiste en una proliferación de células columnares atípicas con células caliciformes intercaladas, glándulas formadoras y papilas. Se localiza preferentemente en la región etmoidal y la mayoría de los casos parecen originarse en la hendidura olfatoria (5).

1.3.1 Epidemiología

El ITAC es un tumor poco frecuente con una incidencia y distribución por sexos heterogéneas a nivel mundial. En Europa, la incidencia estandarizada por edad por cada 100.000 personas al año es de 0,26 casos en hombres y 0,04 en mujeres; el predominio masculino de los tumores nasosinuales es probablemente el resultado de la implicación etiológica de los riesgos laborales (6). La incidencia de ITAC en el

norte de España es de 0,19 casos por 100.000 habitantes y año, siendo el Principado de Asturias el que más casos tiene publicados (7,36)

1.3.2 Etiopatogenia

Los ITAC, se denominan así debido a su semejanza histopatológica con el adenocarcinoma colorrectal. Aproximadamente el 85% de los pacientes que presentan este tipo de tumor han estado expuestos, en el medio laboral, al polvo de madera. Se estima que tienen 500 veces más riesgo de desarrollar este tumor que aquellos no expuestos y casi 900 veces más que el resto de la población. El tiempo de exposición suele ser prolongado, incluso llegando a décadas. Además del polvo de madera, el cuero y sustancias químicas como pegamentos, formaldehído, cromo, níquel y diversos compuestos utilizados en la industria textil se han asociado con carcinomas nasosinusales, principalmente. En contraparte, el tabaco, un fuerte factor etiológico del carcinoma escamocelular de cabeza y cuello, no parece desempeñar un papel importante en su desarrollo (8, 41).

Dado que el polvo de madera no posee propiedades mutagénicas, se puede plantear la hipótesis de que la exposición prolongada y la irritación causada por las partículas de la madera, estimulan la renovación celular mediante vías inflamatorias. Holmila et al. demostraron que los adenocarcinomas nasales relacionados con el polvo de madera presentan niveles elevados de COX 2, a diferencia de los carcinomas de células escamosas relacionados con el tabaquismo, lo que sugiere que la inflamación crónica desempeña un papel en la tumorigénesis del ITAC (9).

1.3.3 Histopatología

La cavidad nasosinusal está revestida por un epitelio respiratorio pseudoestratificado, que se transforma en epitelio olfatorio pseudoestratificado en el techo de la cavidad nasal (**Figura 3**). La principal diferencia entre estos epitelios reside en la presencia de neuronas olfativas en este último, cuyos axones forman haces nerviosos amielínicos que recorren la lámina cribiforme y transmiten señales olfativas al bulbo olfatorio (6).

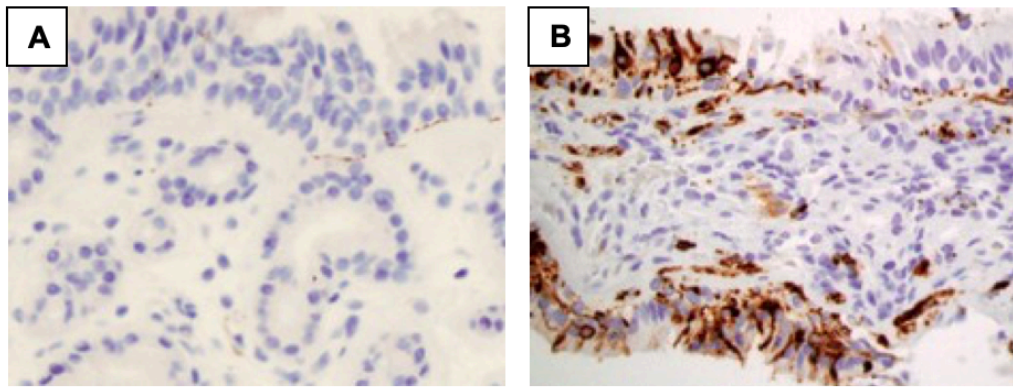


Figura 3: Epitelio respiratorio normal (A). Epitelio olfatorio con neuronas olfatorias (Tinción marrón) (B). Figura tomada de Llorente JL. et al., 2014

Basados en la clasificación de Barnes (4) y Kleinsasser et al (2) , se establecen 4 tipos histopatológicos de ITAC: colónico (40%) caracterizado por ser moderadamente diferenciado y con patrón túbulo papilar mixto; mucinoso (22%) con células caliciformes alveolares o células en anillo de sello y lagos de mucina; sólido (20%), se caracteriza por ser poco diferenciado, células tubulares poco frecuentes con presencia de núcleos hipercromáticos y papilar (18%) caracterizado por ser bien diferenciado y presentar células monomórficas, columnares altas (**Figura 4**).

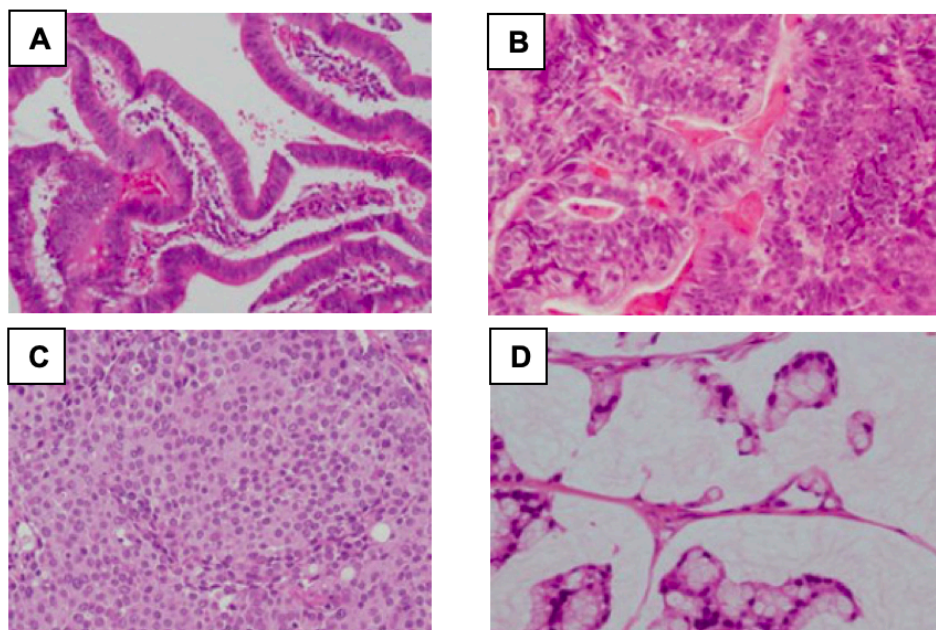


Figura 4: Tinción de hematoxilina-eosina de los diferentes subtipos histológicos de ITAC. Papilar (A), Colónico (B), Sólido (C), Mucinoso (D). Figura tomada de Llorente JL. et al., 2014

1.3.4 Fisiopatología y Marcadores Moleculares

En cuanto a la fisiopatología, Llorente et al., han propuesto que tanto la metaplasia cuboidal como la intestinal son precursoras del carcinoma in situ de células escamosas (ITAC), ya que estos tejidos metaplásicos se han observado adyacentes a dichos tumores y en la mucosa nasosinusal de individuos expuestos a factores de riesgo etiológicos (4, 6, 37, 38) (**Figura 5**).

Figura 5

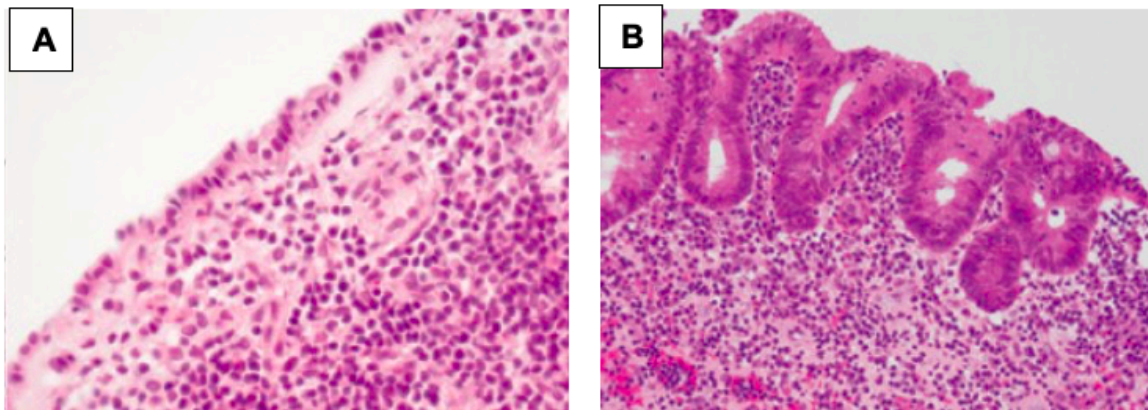


Figura 5: *Metaplasia cuboidal, precursora de ITAC (A). Metaplasia intestinal (B). Figura tomada de Llorente JL. et al., 2014*

1.3.5 Marcadores de Diferenciación Intestinal

Una proteína que probablemente participa en la transformación metaplásica del epitelio terminalmente diferenciado en un epitelio neoplásico fenotípicamente diferente, similar al fenotipo intestinal del ITAC, es la proteína CDX2, que se expresa consistentemente en el núcleo. CDX2 es un factor de transcripción que participa en la regulación de la proliferación y diferenciación de las células intestinales, su positividad llega hasta el 86% en los adenocarcinomas colorrectales (11, 39).

La adquisición de la expresión de CK20 parece ser otro aspecto de la diferenciación intestinal que caracteriza al ITAC. De hecho, este marcador está ausente en los epitelios nasosinuales normales, mientras que se expresa en la mayoría de los ITAC de las fosas nasales y los senos paranasales, independientemente del subtipo histológico. Según Ozolek 2007, su tinción positiva se asocia en el 50% a malignidad (12).

1.3.6 Marcadores Neuroendocrinos

Los ITAC también muestran una expresión variable de marcadores neuroendocrinos, incluida la cromogranina (55%–75% de los casos) y la sinaptofisina (0%–78% de los casos), con una frecuencia más alta en comparación con los adenocarcinomas colorrectales (13). La cromogranina es una proteína ubicada en vesículas secretoras de neuronas y células endocrinas, su tinción suele ser positiva en tumores neuroendocrinos y de células ganglionares (carcinoide, carcinoma de células de Merkel-pulmón, neuroblastoma, carcinoma neuroendocrino, paraganglioma, carcinoma de células pequeñas) (14). La sinaptofisina es una glicoproteína de membrana integral localizada en vesículas neurosecretoras presinápticas, su tinción es positiva en tumores neuroendocrinos bien diferenciados y se utiliza junto con cromogranina A, INSM1 (proteína 1 asociada insulinoma) y CD56 para diagnosticar tumores neuroendocrinos (15), se conoce que en ciertos tipos de adenocarcinomas como es el caso de adenocarcinoma de pulmón, cuando su tinción es positiva se asocia con peor pronóstico (16).

INSM1, es un marcador nuclear de diferenciación neuroendocrina con sensibilidad y especificidad equivalentes o mejores en comparación con la sinaptofisina, la cromogranina y el CD56, se expresa en un amplio espectro de tumores neuroendocrinos como por ejemplo el neuroblastoma olfatorio y carcinoma medular de tiroides, presenta mayor expresión en carcinomas neuroendocrinos gastrointestinales del intestino medio con metástasis en comparación con aquellos que aún no han presentado metástasis (17, 40).

Por su parte, CD56 es una glicoproteína de unión homofílica con un papel en la adhesión célula-célula y aunque es un marcador sensible para tumores neuroendocrinos en la mayoría de carcinomas de células pequeñas/tumores carcinoides, no es específico de la diferenciación neuroendocrina y debe utilizarse siempre junto con otros marcadores de linaje neuroendocrino (18).

1.3.7 Alteraciones Moleculares y Genéticas

Hay relativamente pocos estudios que señalan los cambios genéticos de los ITAC. Estudios anteriores de nuestro grupo han demostrado que entre el 40% y el 50% de las mutaciones en TP53 y el 15% ocurren en KRAS y HRAS, mientras que las

mutaciones en BRAF y EGFR estaban ausentes en el ITAC primario (19). Otras alteraciones genéticas incluyen pérdida de la heterocigosidad en 17p13 y 9q21 y la metilación aberrante de p14 y p16 (20). Esto sugiere que la desregulación de genes supresores tumorales es un acontecimiento importante en el desarrollo de ITAC. La expresión nuclear de β -catenina que indica activación de la vía de Wnt se ha informado en el 31% al 53% de los casos. Más recientemente, los estudios de secuenciación de próxima generación (NGS) han mostrado mutaciones frecuentes en genes que desempeñan un papel en la vía de Wnt (APC, CTNNB1), la vía de ERK (KRAS, NRAS, BRAF, NF1), la vía de PI3K (PIK3CA, PIK3R2, MTOR) y la vía de reparación del ADN homólogo (BRCA1, BRCA2, ATM). Estas vías mutadas no ocurrieron de manera mutuamente excluyente y no pueden considerarse como subgrupos genéticos definitorios del ITAC (21).

1.3.8 Manifestaciones Clínicas

En la clínica, el ITAC suele presentarse como tumores indolentes de crecimiento lento con síntomas unilaterales inespecíficos (en ocasiones bilaterales) propios de su sitio de origen, como obstrucción nasal, epistaxis o rinorrea, con frecuencia se confunde con inflamación crónica (rinitis, sinusitis) o tumores benignos. Debido a esto, el diagnóstico suele ser tardío, con un intervalo de 6 a 8 meses desde los primeros síntomas hasta el diagnóstico (4). Son tumores localmente agresivos, con frecuentes recurrencias locales en hasta el 50% de los casos. (22)

1.3.9 Tratamiento

La principal modalidad de tratamiento es la cirugía endoscópica o abierta con radioterapia postoperatoria y, en algunos casos, se pueden utilizar modalidades combinadas que incluyen quimioterapia (23). El tratamiento quirúrgico ha avanzado debido a la aplicación progresiva de técnicas endoscópicas transnasales para neoplasias malignas nasoesfinales. La quimioterapia convencional sola con cisplatino, 5-Fu o taxanos es ineficaz como tratamiento único para el ITAC y solo se utiliza como radiosensibilizador incluso en el entorno paliativo. Hasta el momento no existe un protocolo definido para la enfermedad recurrente y la metástasis (24).

1.3.10 Pronóstico

Los pacientes con ITAC aún enfrentan un pronóstico desfavorable, con una tasa de supervivencia a cinco años que varía del 35% para el estadio IV al 80% para los tumores en estadio I (23). Con respecto al comportamiento biológico de estas neoplasias, más de la mitad de los casos recurren (53%); en promedio 8% provocan metástasis en ganglios linfáticos cervicales con oscilaciones que van de cero a 20%. Aproximadamente 13% (0-29%) de los casos presentan metástasis sistémicas y en general 60% de los casos mueren como consecuencia de la enfermedad (24).

2. HIPÓTESIS

En base a la histología, el ITAC colónico o mucinoso no puede distinguirse con certeza del carcinoma colorrectal metastásico al tracto nasosinusal. Tanto los ITAC como los carcinomas colorrectales expresan CK20, CDX2, MUC2 y villina, mientras que la presencia de CK7 puede ser sugestiva de ITAC (25). Un aspecto emergente de particular interés es la expresión de marcadores neuroendocrinos en ITAC. Proteínas como la cromogranina A, la sinaptofisina, INSM1 y CD56, tradicionalmente asociadas a tumores neuroendocrinos, también se expresan en una proporción variable de estos adenocarcinomas. Estas observaciones permiten plantear la hipótesis de que la evaluación de la expresión de marcadores neuroendocrinos en el ITAC puede ser útil como herramienta pronóstica, al estar asociada a un fenotipo tumoral más indiferenciado y posiblemente más agresivo. En otras neoplasias, como el adenocarcinoma pulmonar, la expresión positiva de estos marcadores ha demostrado correlación con un peor pronóstico, lo cual refuerza la relevancia de estudiar su papel en el ITAC. Además, identificar estos marcadores puede no solo contribuir a una estratificación pronóstica más precisa, sino también sugerir nuevos enfoques terapéuticos, basados en esquemas utilizados en carcinomas neuroendocrinos, en pacientes con ITAC que expresen dichos marcadores.

Es por ello que la caracterización inmunohistoquímica del ITAC mediante marcadores neuroendocrinos representa una línea de investigación prometedora, con el potencial de mejorar el conocimiento del comportamiento tumoral, optimizar el pronóstico clínico y abrir la puerta a terapias personalizadas más eficaces en esta patología de difícil manejo clínico.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la expresión de marcadores neuroendocrinos e intestinales en adenocarcinomas nasosinusales de tipo intestinal (ITAC) y su relación con parámetros clínicos y pronósticos como recurrencia, metástasis y supervivencia.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Determinar la frecuencia de expresión de marcadores intestinales (CDX2, CK20) y marcadores neuroendocrinos (cromogranina A, sinaptofisina, INSM1 y CD56) en muestras de tumores primarios de pacientes diagnosticados con ITAC.

3.2.2 Correlacionar la expresión de marcadores neuroendocrinos con características clínicas e histopatológicas, incluyendo el estadio tumoral, tasa de recurrencia y presencia de metástasis y seguimiento.

3.3.3 Analizar la coexpresión de marcadores intestinales y neuroendocrinos, identificando patrones moleculares asociados a un comportamiento tumoral más agresivo.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1 Pacientes y Muestra

Se escogieron muestras de 138 pacientes con ITAC primario, recolectadas entre 1978 y 2014 de los archivos del biobanco de nuestro hospital. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado para la recogida, análisis y almacenamiento de su material biológico, el estudio fue aprobado por el Comité de Ética Institucional del Hospital Universitario Central de Asturias y por el CEIC Regional del Principado de Asturias (número de aprobación 2023.529, 17 dic 2023 para el proyecto PI22/00506). Los datos fueron recolectados en Microsoft Excel, en la que los casos clínicos se dispusieron en el eje Y, mientras que en el eje X se visualizaron los niveles de expresión inmunohistoquímica y las variables clínicas asociadas.

La edad media de los pacientes fue de 66 años y el 98.5% (136/138) de los pacientes fueron varones. La distribución del estadio de la enfermedad según el sistema TNM para la clasificación tumoral (26) fue: 31 tumores en estadio I (22.5%), 17 en estadio II (12.3%), 48 en estadio III (34.8%), 17 en estadio IVa (12,3%) y 25 en estadio IVb (18.1%). Trece casos fueron papilares (9.4%), 82 colónicos (59.4%), 10 sólidos (7.2%) y 33 mucinosos (23.9%). Se registró como antecedente de exposición profesional al polvo de madera en 122 de 138 pacientes (88.4%). Fueron operados 129/138 pacientes (93.4%), de los cuales 80 recibieron radioterapia posterior a esta (58%). La mediana de seguimiento fue de 30 meses (rango: 1-460). Los detalles de las características clínicas se presentan en la **Tabla 1**.

Características clínicas	Total (%)
Sexo	
Femenino	2 (1.4)
Masculino	136 (98.5)
Estadio	
I	31 (22.5)
II	17 (12.3)
III	48 (34.8)
IV-a	17 (12.3)
IV-b	25 (18.1)
Subtipo histológico	
Papilar	13 (9.4)
Colónico	82 (59.4)
Sólido	10 (7.2)
Mucinoso	33 (23.9)
Reaparición	
No	74 (53.6)
Si	64 (46.4)
Metástasis	
No	123 (89.1)
Si	15 (10.9)
Estado del paciente	
Vivo	61 (44.2)
Murió de enfermedad	56 (40.6)
Murió por otras causas	21 (15.2)

Tabla 1: Características clínicas de la muestra.

4.2 Inmunohistoquímica

Se prepararon bloques de microarrays tisulares (TMA) a partir de tejidos tumorales fijados con formalina e incluidos en parafina utilizando el Beecher Tissue Microarrayer (Beecher Instruments, Silver Spring, MD, EE. UU.). En total, se

construyeron 5 bloques de TMA, que contenían tres núcleos de 1 mm de diferentes áreas de 138 tumores ITAC. La IHQ se realizó en una estación de tinción automática (Dako Autostainer Plus; DakoCytomation, Glostrup, Dinamarca). Se utilizaron los siguientes anticuerpos: anti-CD56, anti-CDX2 clon DAK-CDX2, anti-CK20 clon Ks20,8, anti-sinaptofisina clon DAK-SYNAP (monoclonales prediluidos de ratón, DAKO, Glostrup, Dinamarca), anti-cromogranina A clon DAK-A3 (monoclonal de ratón, 1/200, DAKO, Glostrup, Dinamarca), anti-INSM1 clon A-8 (monoclonal de ratón, 1/100, Santa Cruz sc-271408, aplicando recuperación de antígeno a pH 9 durante 20 min. Las muestras fueron observadas bajo el microscopio de luz.

La positividad de los marcadores se estableció en tres grupos divididos de acuerdo al porcentaje de expresión de la siguiente manera, de 0-10%, 11-50% y >50% según la cantidad de células presentes en las muestras analizadas. La intensidad de la tinción se dividió en baja, moderada y alta. Se calculó el score de positividad multiplicando el porcentaje de expresión por la intensidad y se dividió en 4 grupos según el resultado de la multiplicación: Negativo (valor 0), Bajo (valor 1 ó 2), Moderado (valor 3 ó 4) y Alto (valor 6 ó 9).

4.2.1 Criterios De Exclusión

Del total de 162 muestras disponibles para la evaluación mediante inmunohistoquímica, sólo se incluyeron 132 en el análisis final. Las 30 muestras restantes fueron excluidas por no cumplir con los criterios mínimos requeridos para el estudio, ya sea por la falta de información clínica indispensable para su correlación con los hallazgos histopatológicos, o porque los cortes analizados no contenían tejido tumoral representativo, lo que dificultó una evaluación adecuada de la expresión de los marcadores.

4.3 Análisis Estadístico De Las Muestras

Se utilizó la prueba de χ^2 para evaluar las posibles asociaciones entre la expresión positiva de marcadores intestinales y neuroendocrinos y diversos factores clinicopatológicos. Se trazaron curvas de Kaplan-Meier para evaluar la relación entre

la expresión de los marcadores con la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad mediante la prueba de log-rank; los valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos. El análisis estadístico se realizó con los programas SPSS Base, versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

5. RESULTADOS

5.1 Los marcadores de diferenciación diagnósticos y neuroendocrinos se expresaron positivamente en las muestras de ITAC analizadas.

Se analizó cada marcador de diferenciación diagnóstica y neuroendocrinos, encontrando que cada uno de ellos presentaba expresión positiva en las muestras de ITAC analizadas. CK20 tuvo expresión positiva en el 87.7% (121/138) de los casos, igual que CDX2 que se expresó positivamente en el 87.7% (121/138). De los marcadores neuroendocrinos, cromogranina A fue positiva en el 37% (51/138), sinaptofisina en el 5.8% (8/138), INSM1 en el 39.9% (55/138) y CD56 en el 18.1% (25/138) (**Figura 6**).

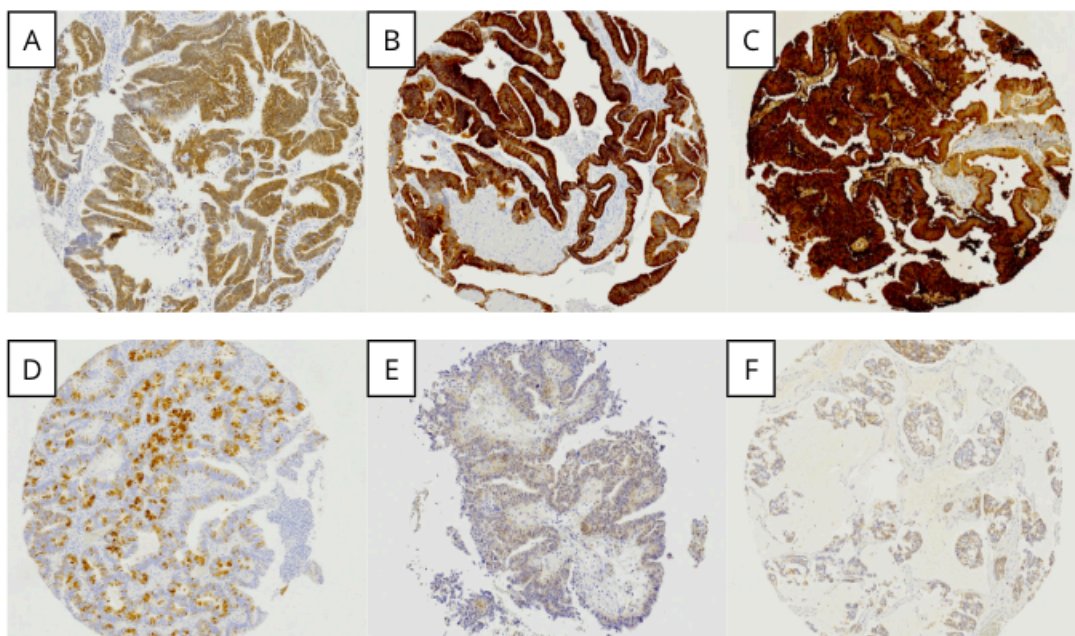


Figura 6: Tinciones positivas de marcadores de diferenciación diagnóstica y neuroendocrinos. CDX2 (A). CK20 (B). Cromogranina (C). Sinaptofisina (D). INSM1 (E). CD56 (F).

A su vez, se evaluó la intensidad de la inmunotinción para cada uno de ellos. En el caso de CDX2 mostró alta intensidad en el 73.2% (101/138) de los casos, moderada intensidad en el 12.3% (18/138) y baja intensidad en el 13.8% (19/138) siendo el marcador con la proporción más elevada de intensidad alta, seguido de CK20 que presentó intensidad alta en el 70.3% (97/138), intensidad moderada en el 12.3% (17/138) y baja intensidad en el 17.4% (24/138), confirmando su papel como marcadores típicos de diferenciación intestinal.

En relación con los marcadores neuroendocrinos, cromogranina, presentó una intensidad predominantemente baja 84.8% (117/138) con sólo un 10.9% (15/138) con alta intensidad de expresión. La sinaptofisina se caracterizó por una intensidad mayoritariamente baja 98.6% (136/138), sin casos de intensidad moderada, y con sólo 1.4% (2/138) de intensidad alta. INSM1 también mostró una tendencia a baja intensidad 79.7% (110/138), aunque un 12.3% (17/138) de los casos presentó intensidad alta. CD56 tuvo baja intensidad en 91.3% (126/138) de los casos, con una mínima intensidad alta del 3.6% (5/138). Los resultados se detallan en la ***Tabla 2.***

Marcador	Intensidad baja		Intensidad moderada		Intensidad alta	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	Frecuencia	%
CDX2	19	13.8	18	13	101	73.2
CK20	24	17.4	17	12.3	97	70.3
Cromogranina	117	84.8	6	2.7	15	10.9
Sinaptofisina	136	98.6	0	0	2	1.4
INSM 1	110	79.7	11	8	17	12.3
CD56	126	91.3	7	5.1	5	3.6

Tabla 2: Distribución de la intensidad de expresión de los distintos marcadores inmunohistoquímicos en ITAC.

5.2 Relación de las características clínicas con la supervivencia

Durante el período de seguimiento, 64 de 138 pacientes (46.3%) desarrollaron recurrencia local y 15 (10.8%) metástasis a distancia. Sesenta y uno de 138 pacientes (44.2%) permanecieron vivos y la mediana de tiempo libre de enfermedad fue de 14 meses (rango 0-262 meses). La supervivencia global a cinco años fue del 44.2%, siendo las principales causas de muerte la recurrencia local y la invasión intracraneal; sin embargo, 21 pacientes (15.2%) murieron durante el período postoperatorio debido a causas ajenas al tumor. La supervivencia global (**Figura 6**)

se relacionó significativamente con el estadio de la enfermedad (log-rank 49.732; $p = 0,000$) y el subtipo histológico (log-rank 16.223; $p = 0,001$).

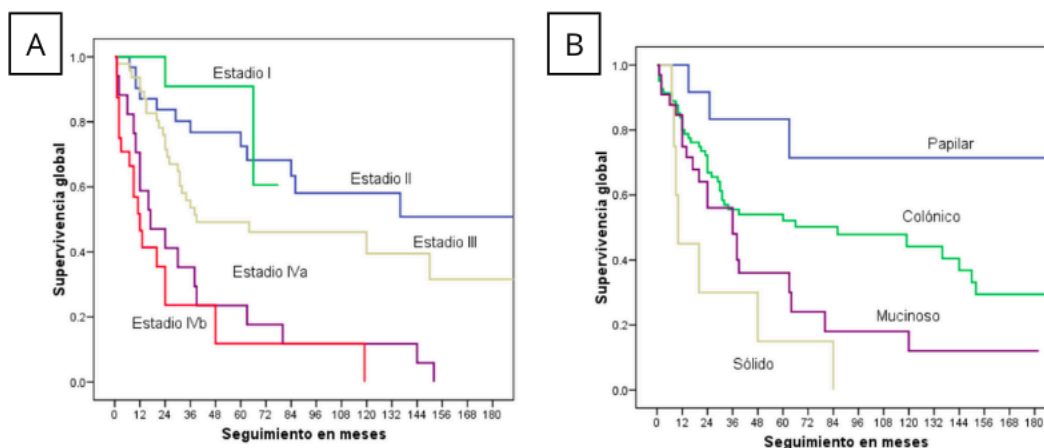


Figura 7: Supervivencia global según estadio tumoral (A) y subtipo histológico (B)

Se evaluó la distribución del score de los distintos marcadores en ITAC. CDX2 y CK20, ambos marcadores de diferenciación intestinal, mostraron una alta proporción de casos con score alto, con 77.5% (107/138) y 71.7% (99/138) respectivamente. Estos resultados confirman su utilidad como marcadores robustos de diferenciación intestinal en este tipo de tumores. Cromogranina, presentó una alta proporción de score negativo 62.3% (86/138), con únicamente un 12.1% (17/138) de casos con score alto. Sinaptofisina mostró un patrón aún más marcado, con 94.2% (130/138) de score negativo, sugiriendo una expresión prácticamente nula en la mayoría de los casos evaluados. INSM1, presentó una mayor heterogeneidad: aunque 60.9% (84/138) de los casos fueron negativos, se observó un 16.7% (23/138) de score moderado y un 9.4% (13/138) de score alto, indicando que su expresión puede estar presente en un subgrupo minoritario de tumores. Finalmente CD56 mostró una tendencia similar a la de sinaptofisina, con un 82.6% (114/138) de score negativo y un 6.5% (3/138) de score alto. Los resultados de forma detallada pueden verse en la **Tabla 3 y Gráfico 1**

Marcador	Score negativo		Score low		Score moderate		Score High	
	Total	%	Total	%	Total	%	Total	%
CDX2	16	11.6	4	2.9	11	8	107	77.5
CK20	16	11.6	10	7.2	13	9.4	99	71.7
Cromogranina	86	62.3	8	5.8	27	19.6	17	12.3
Sinaptofisina	130	94.2	3	2.2	3	2.2	2	1.4
INSM 1	84	60.9	18	13	23	16.7	13	9.4
CD56	114	82.6	10	7.2	5	3.6	3	6.5

Tabla 3: Distribución del score de expresión de los marcadores en ITAC.

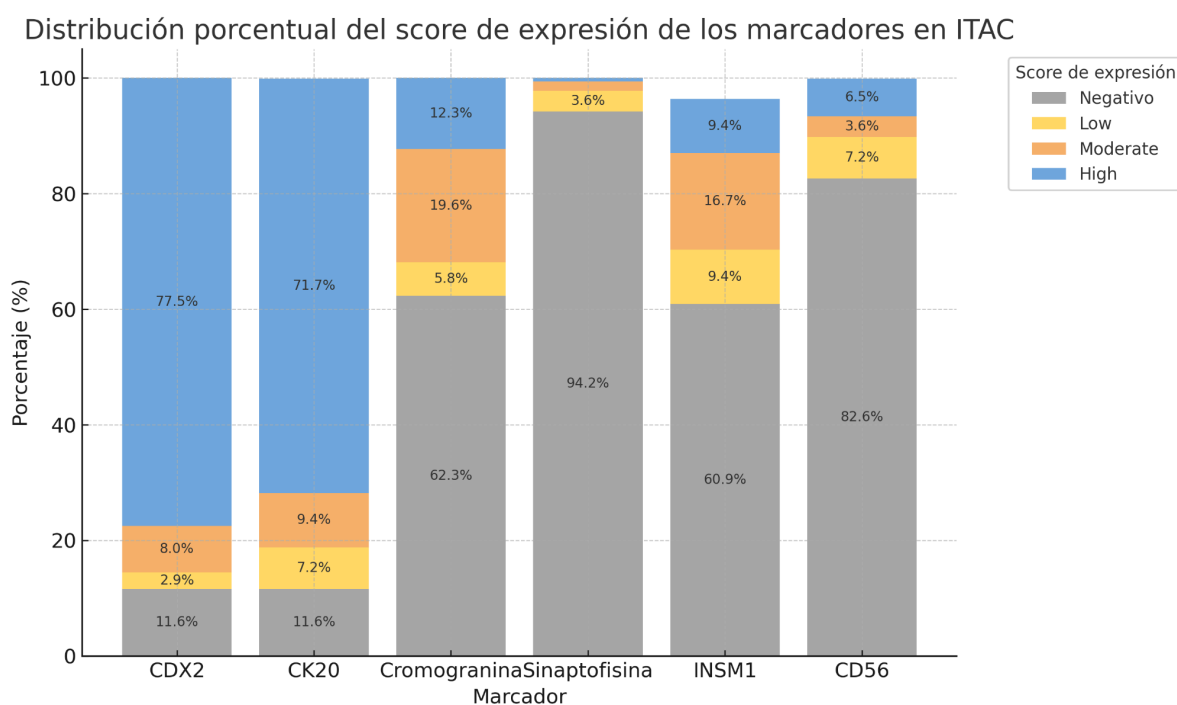


Gráfico 1: Distribución del score de expresión de los marcadores en ITAC representado en un diagrama de barras.

Se comparó el score de expresión con el subtipo histológico (papilar, colónico, sólido y mucinoso) y estadio clínico (I a IVb). En cuanto a los marcadores de diferenciación intestinal CK20 presentó expresión moderada o alta en la mayoría de los casos colónicos (67 casos) y papilares (13 casos), mientras que fue menos frecuente en los subtipos sólido (12 casos) y mucinoso (8 casos). Solo 16 casos en total fueron negativos para CK20, con la mayoría pertenecientes a los subtipos mucinoso (4 casos), sólido (4 casos) y colónico (8 casos). Por su parte, CDX2 también mostró mayor expresión en los subtipos colónico y papilar, con 65 casos colónicos y 13 casos papilares presentando niveles moderados o altos. En contraste, el subtipo mucinoso presentó 16 casos negativos para este marcador y solo 4 con expresión moderada o alta. El subtipo sólido mostró una expresión intermedia, con 5 casos

moderados o altos y 8 negativos. En cuanto a la distribución por estadio, la expresión alta de CK20 se observó principalmente en los estadios I (26 casos), II (13 casos) y III (12 casos), disminuyendo en los estadios IVa y IVb (4 y 2 casos, respectivamente). CDX2 mostró una distribución similar, con la mayoría de los casos con expresión alta concentrados en estadios I (28 casos), II (14 casos) y III (12 casos), mientras que los estadios más avanzados mostraron una disminución clara.

	Papilar	Colónico	Sólido	Mucinoso	Total
CK20					
Negativo	0	8	4	4	16
Low	0	8	0	2	10
Moderate	3	5	0	5	13
High	10	61	6	22	99
Total	13	82	10	33	138
CDX2					
Negativo	0	8	5	3	16
Low	0	1	0	3	4
Moderate	0	6	0	5	11
High	13	67	5	22	107
Total	13	82	10	33	138
Cromogranina					
Negativo	5	47	9	25	86
Low	2	6	0	0	8
Moderate	3	19	1	4	27
High	3	10	0	4	17
Total	13	82	10	33	138
Sinaptofisina					
Negativo	11	79	9	31	130
Low	1	1	0	1	3
Moderate	1	1	0	1	3
High	0	1	1	0	2
Total	13	82	10	33	138
INSM1					
Negativo	5	50	8	21	84
Low	1	13	1	3	18
Moderate	5	11	0	7	23
High	2	8	1	2	13
Total	13	82	10	33	138
CD56					
Negativo	11	69	7	27	114
Low	1	6	2	1	10
Moderate	1	3	0	1	5
High	0	4	1	4	9
Total	13	82	10	33	138

Tabla 4: Relación del Score de expresión con el subtipo histológico

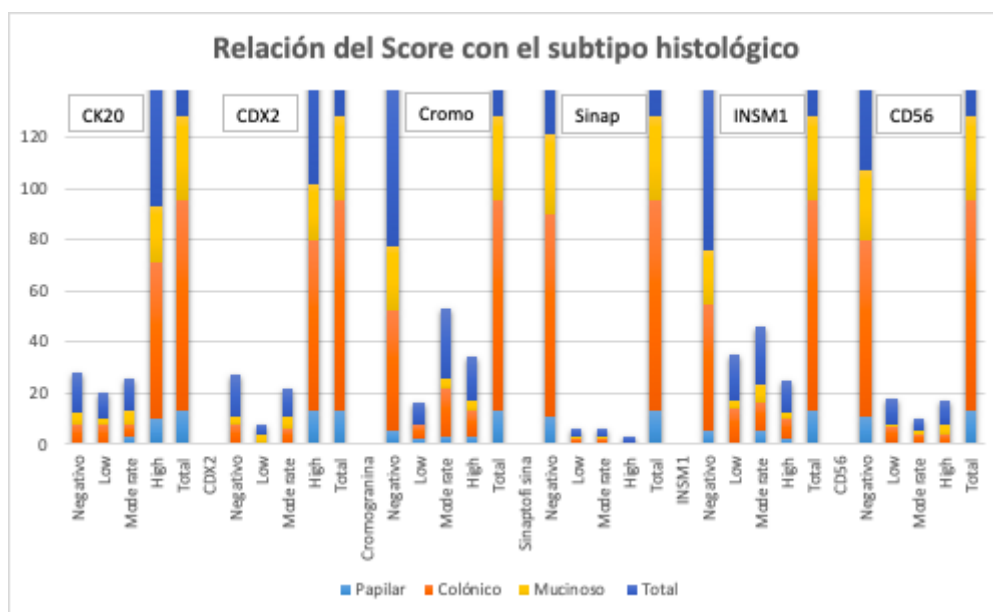


Gráfico 2: Relación del Score de expresión con el subtipo histológico

La expresión de cromogranina fue negativa en 86 casos, con mayor presencia en los subtipos colónico (47 casos) y mucinoso (25 casos). Solo 17 casos en total presentaron expresión moderada o alta, siendo los subtipos sólido (5 casos moderados, 4 altos) y papilar (3 moderados, 3 altos) los que más contribuyeron a estos resultados. Por estadio, la expresión moderada o alta de cromogranina se concentró en los estadios II (1 moderado, 1 alto) y III (4 moderados, 5 altos), con una notable negatividad en estadios I, IVa y IVb.

Sinaptofisina se expresó de forma negativa en 130 de los 138 casos analizados, con apenas 8 casos positivos (1 bajo, 3 moderados y 4 altos). La expresión positiva fue más frecuente en el subtipo sólido (1 bajo, 2 moderados y 2 altos) y papilar (1 moderado, 1 alto). La expresión de sinaptofisina fue prácticamente nula en todos los estadios, con apenas un caso alto en estadio III y otro en IVb.

INSM1 mostró 19 casos con expresión moderada o alta, principalmente en los subtipos papilar (4 moderados, 1 alto) y sólido (3 moderados, 1 alto), además de cierta expresión en el subtipo colónico (6 moderados, 6 altos). En el subtipo mucinoso, la expresión fue muy limitada (1 moderado, 1 alto). En total, 84 casos fueron negativos para INSM1. La distribución por estadio mostró expresión alta especialmente en estadios III (6 casos), IVa (4) y IVb (4), mientras que en estadios I y II la expresión fue menos frecuente (2 y 3 casos, respectivamente).

CD56 fue negativo en la mayoría de los casos (114), con una expresión moderada o alta en solo 6 casos. Los subtipos papilar, colónico y sólido presentaron escasos casos positivos (1 a 3 por subtipo), mientras que el mucinoso no mostró expresión moderada o alta. Esta escasa positividad se reflejó también en todos los estadios clínicos, con 0 o 1 caso positivo por estadio. Los resultados anteriormente mencionados con relación al subtipo histológico se pueden observar en la **Tabla 4** y el **Gráfico 2** y los relacionados con el estadio tumoral se pueden observar en la **Tabla 5** y el **Gráfico 3**

	Estadio I	Estadio II	Estadio III	Estadio IVa	Estadio IVb	Total
CK20						
Negativo	3	1	5	2	5	16
Low	0	1	6	2	1	10
Moderate	2	2	2	3	4	13
High	26	13	35	10	15	99
Total	31	17	48	17	25	138
CDX2						
Negativo	2	2	5	1	6	16
Low	0	0	1	1	2	4
Moderate	1	1	6	2	1	11
High	28	14	36	13	16	107
Total	31	17	48	17	25	138
Cromogranina						
Negativo	21	7	30	9	19	86
Low	0	1	4	2	1	8
Moderate	6	4	9	3	5	27
High	4	5	5	3	0	17
Total	31	7	48	17	25	138
Sinaptofisina						
Negativo	30	14	48	16	22	130
Low	1	0	0	0	2	3
Moderate	0	2	0	1	0	3
High	0	1	0	0	1	2
Total	31	17	48	17	25	138
INSM1						
Negativo	18	7	29	12	18	84
Low	6	2	6	1	3	18
Moderate	5	5	6	3	4	23
High	2	3	7	1	0	13
Total	31	17	48	17	25	138
CD56						
Negativo	25	16	43	12	18	114
Low	4	0	2	2	2	10
Moderate	0	0	1	2	2	5
High	2	1	2	1	3	9
Total	31	17	48	17	25	138

Tabla 5: Relación del Score de expresión con el estadio tumoral



Gráfico 3: Relación del Score de expresión con el estadio tumoral

Se evaluó la relación entre la intensidad de expresión de los marcadores y la supervivencia global (Figuras 8A-8F). Los pacientes con expresión moderada de CK20 mostraron una mayor supervivencia en comparación con aquellos con expresión baja o alta. No obstante, esta diferencia no alcanzó significación estadística (log-rank 0.506; $p=0.777$). En el caso del marcador CDX2, se observó que los pacientes con expresión “Alta” presentaron una supervivencia superior a la de aquellos con expresión baja o moderada. Sin embargo, esta diferencia tampoco fue estadísticamente significativa (log-rank 0.420; $p=0.811$). Los pacientes con expresión moderada de cromogranina mostraron una mejor supervivencia global respecto a aquellos con expresión baja o alta. Sin embargo, a los 5 años específicamente, una alta expresión de cromogranina se asoció con un mejor pronóstico. A pesar de estas observaciones, los resultados no fueron estadísticamente significativos (log-rank 0.186; $p=0.911$). En cuanto a la sinaptofisina, cabe destacar que ninguna muestra presentó expresión moderada, únicamente baja y alta; la supervivencia global mostró que los pacientes con expresión alta de este marcador tuvieron mayor supervivencia en comparación con aquellos con expresión baja, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (log-rank 0.773; $p=0.379$). Los pacientes con expresión moderada del marcador INSM1 presentaron mayor supervivencia en comparación con aquellos con expresión baja o alta. De nuevo, esta diferencia no alcanzó significación

estadística (log-rank 0.222; $p=0.895$). Finalmente, se observó que los pacientes con expresión alta de CD56 mostraron una mayor supervivencia en comparación con aquellos con expresión baja o moderada, sin que esta diferencia fuera estadísticamente significativa (log-rank 1.327; $p=0.515$). (**Figura 8**).

Se realizaron análisis de supervivencia global según el score que presentaba cada marcador, se comparan cuatro grupos: Score Negativo, Score Bajo (Low), Score Moderado (Moderate) y Score Alto (High), los resultados son los siguientes:

CDX2: Se observaron diferencias visibles en la supervivencia entre los distintos grupos, siendo el grupo Moderado el que presentó la mayor supervivencia a lo largo del tiempo, mientras que el grupo Bajo mostró una disminución temprana y marcada de la supervivencia, alcanzando una mediana de seguimiento considerablemente más baja. Los grupos Negativo y Alto exhibieron patrones intermedios de supervivencia. El análisis estadístico mediante la prueba de Log-rank mostró diferencias significativas entre las curvas de supervivencia (Log-rank = 8.184, $p = 0.042$), indicando que el puntaje de CDX2 se asocia de manera significativa con la supervivencia global en esta cohorte.

CK20: Los pacientes con expresión negativa de CK20 parecen tener una supervivencia ligeramente mayor en etapas avanzadas del seguimiento (más allá de los 72 meses), en comparación con aquellos con expresión baja, moderada o alta. La supervivencia de los pacientes con score bajo o moderado parece ser similar durante los primeros 100 meses, pero posteriormente tiende a disminuir más bruscamente, en especial en el grupo "Bajo". El grupo de score Alto muestra una caída progresiva en la supervivencia, sin diferencias claras frente a los grupos moderado o bajo en las etapas tempranas. No existen diferencias significativas entre los distintos niveles de expresión (Log-rank 0.221, $p=0.974$)

Cromogranina: El análisis de supervivencia basado en la expresión de cromogranina reveló curvas de supervivencia relativamente solapadas entre los diferentes grupos de expresión (Negativo, Bajo, Moderado, Alto). Aunque se observaron ligeras variaciones en las tasas de supervivencia inicial, las curvas tendieron a converger a lo largo del seguimiento. El análisis de Log-rank mostró un valor de 0.796 con un $p=0.850$, lo que confirma la ausencia de una diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global según el nivel de expresión de cromogranina.

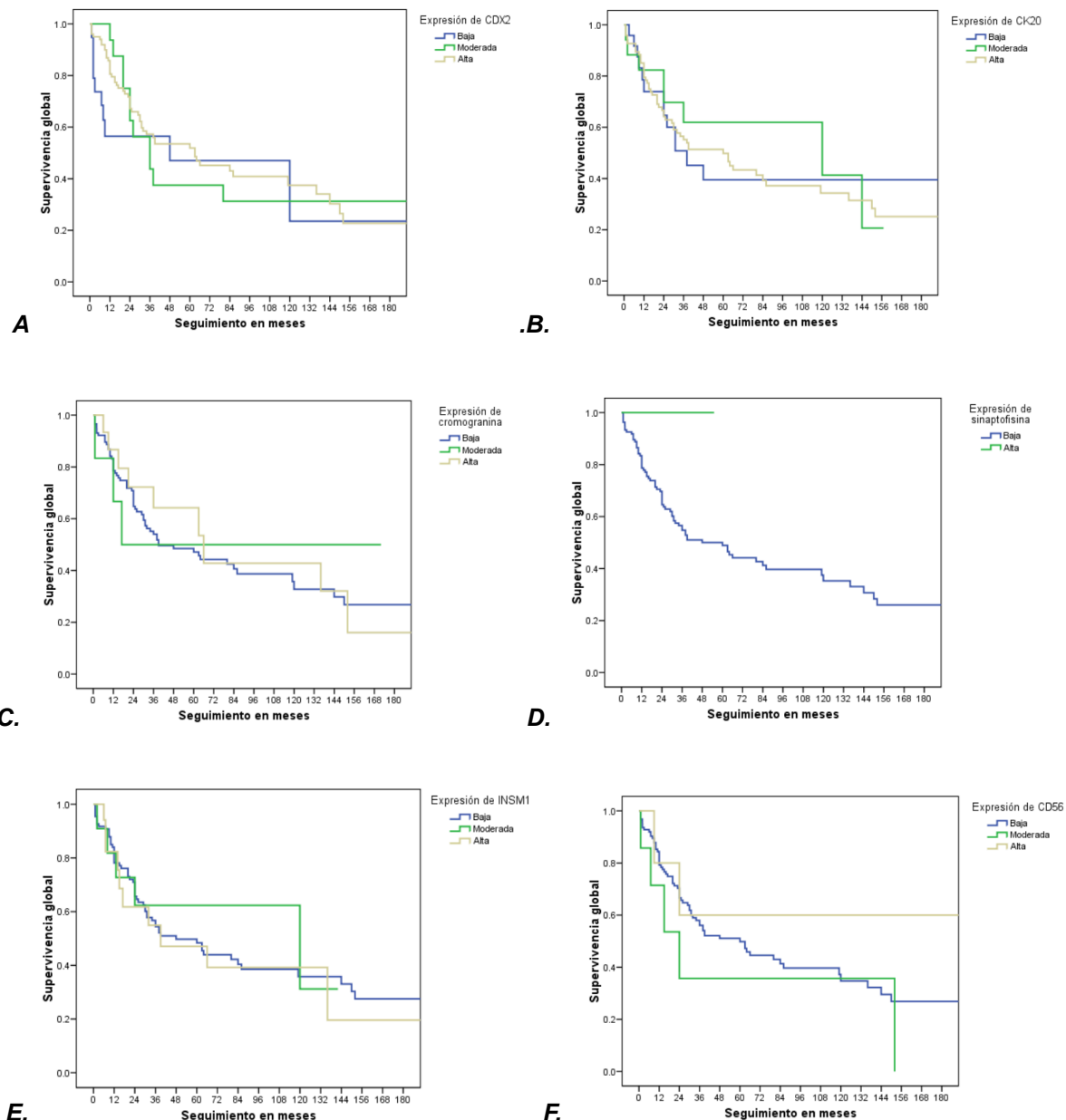


Figura 8: Supervivencia global según el porcentaje de expresión. A: CDX2. B: CK20. C: Cromogranina. D: Sinaptosina. E: INSM1. F: CD56.

Cromogranina: El análisis de supervivencia basado en la expresión de cromogranina reveló curvas de supervivencia relativamente solapadas entre los diferentes grupos de expresión (Negativo, Bajo, Moderado, Alto). Aunque se observaron ligeras variaciones en las tasas de supervivencia inicial, las curvas tendieron a converger a lo largo del seguimiento. El análisis de Log-rank mostró un valor de 0.796 con un $p=0.850$, lo que confirma la ausencia de una diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia global según el nivel de expresión de cromogranina.

Sinaptofisina: El grupo Alto mostró una supervivencia del 100% durante todo el periodo de seguimiento, mientras que el grupo Bajo presentó una caída temprana antes de los 24 meses. Los grupos Moderado y Negativo mostraron una disminución progresiva de la supervivencia, con un peor pronóstico para el grupo Negativo. Sin embargo, el análisis estadístico mediante la prueba de log-rank no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Long-rank 1.931, $p=0.587$), indicando que, a pesar de las diferencias visuales en las curvas, la expresión de sinaptofisina no se asoció de manera significativa con la supervivencia global.

INSM1: La supervivencia global en función de la expresión de INSM1 mostró que el grupo Bajo presentó una supervivencia superior en comparación con los grupos Moderado, Alto y Negativo, que experimentaron caídas progresivas en la supervivencia. Sin embargo, las diferencias entre las curvas fueron mínimas. El análisis estadístico mediante la prueba de Log-rank arrojó un valor de 0.185 con un $p=0.980$, indicando que no existieron diferencias significativas en la supervivencia global entre los diferentes niveles de expresión de INSM1.

CD56: Respecto a la expresión de CD56, el grupo Alto mantuvo una alta supervivencia a lo largo del tiempo, mientras que los grupos Moderado, Bajo y Negativo presentaron un descenso progresivo en la supervivencia, siendo más pronunciado en el grupo Moderado. Aunque visualmente el grupo Alto mostró una tendencia a mejor supervivencia, el análisis estadístico con la prueba de log-rank no alcanzó significancia (log-rank= 4.022, $p= 0.257$). Esto sugiere que, a pesar de una posible tendencia favorable para los casos con alta expresión de CD56, no se evidenció una asociación estadísticamente significativa con la supervivencia global.

Las gráficas de Kaplan Meier se muestran en la **Figura 9**.

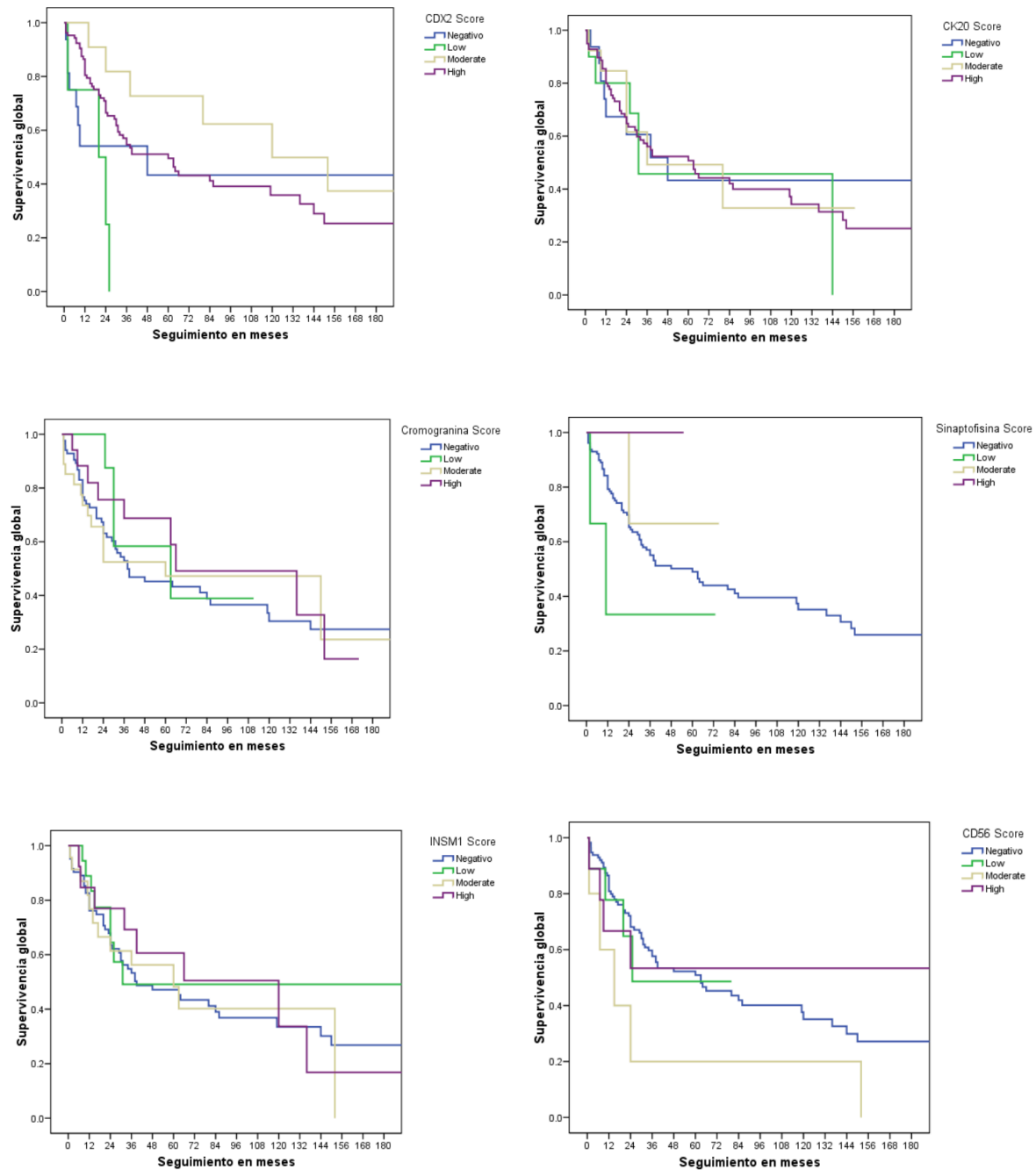


Figura 9: Supervivencia global de acuerdo con el Score de expresión mediante curvas de Kaplan-Meier.

Adicionalmente, se evaluó supervivencia libre de enfermedad (SLE) a 60 meses en función del score de expresión que presentaba cada marcador, los resultados son los siguientes:

CDX2: Se observa una clara diferencia entre los grupos: los pacientes con expresión negativa de CDX2 presentan menor SLE, mientras que los grupos con expresión

positiva, especialmente Moderado, tienen un curso más favorable. El análisis estadístico confirma que existen diferencias significativas, lo que respalda el valor pronóstico de CDX2 para la supervivencia libre de enfermedad en pacientes con ITAC. Este resultado es coherente con su papel como marcador de diferenciación intestinal y su posible asociación con un fenotipo menos agresivo (Log-Rank 9.470, $P=0.024$)

CK20: Aunque se observan ciertas variaciones en la distribución de la SLE entre los grupos de expresión, las curvas no evidencian una separación clara. El análisis estadístico lo confirma con un valor de p no significativo (Log-Rank 2.669 $P=0.445$). Por lo tanto, la expresión de CK20 no se asocia de forma significativa con el tiempo libre de enfermedad, lo que limita su utilidad como marcador pronóstico en este contexto.

Cromogranina: Las curvas correspondientes a la cromogranina muestran una distribución heterogénea de la SLE, sin una tendencia clara entre los diferentes grupos de expresión. La prueba estadística respalda esta observación, ya que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Log-Rank 2.351 $P=0.503$). Esto sugiere que la expresión de cromogranina no tiene valor pronóstico en términos de tiempo libre de enfermedad en esta población

Sinaptofisina: Los pacientes con expresión negativa presentan una reducción más marcada en el tiempo libre de enfermedad. A pesar de que los grupos con expresión positiva (particularmente el grupo Moderado) muestran una tendencia a mayor SLE, las diferencias no alcanzan significancia estadística, aunque el valor de p es cercano al umbral (Log-Rank 6.854 $P=0.077$). Este patrón podría sugerir un posible efecto protector de la expresión de sinaptofisina.

INSM1: Los pacientes con expresión alta de INSM1 presentan una mejor supervivencia libre de enfermedad en comparación con los grupos de expresión negativa o baja. Aunque las curvas sugieren una tendencia clara, la significancia estadística no es concluyente, aunque está muy cercana al umbral tradicional (Log-Rank 7.513 $P=0.057$). Esto sugiere que INSM1 podría tener un valor pronóstico potencial, y futuros estudios con mayor tamaño muestral podrían confirmar esta asociación.

CD56: La curva de SLE muestra que el grupo con expresión alta de CD56 mantiene una mayor proporción de pacientes libres de enfermedad durante más tiempo en comparación con los grupos de menor expresión, especialmente frente al grupo Negativo, que muestra un descenso marcado. No obstante, las diferencias entre las curvas no alcanzan significancia estadística, indicando que la expresión de CD56 no se asocia significativamente con el tiempo libre de enfermedad en esta cohorte (Log-Rank 2.936 P=0.402). Las gráficas de Kaplan Meier se muestran en la **Figura 10**.

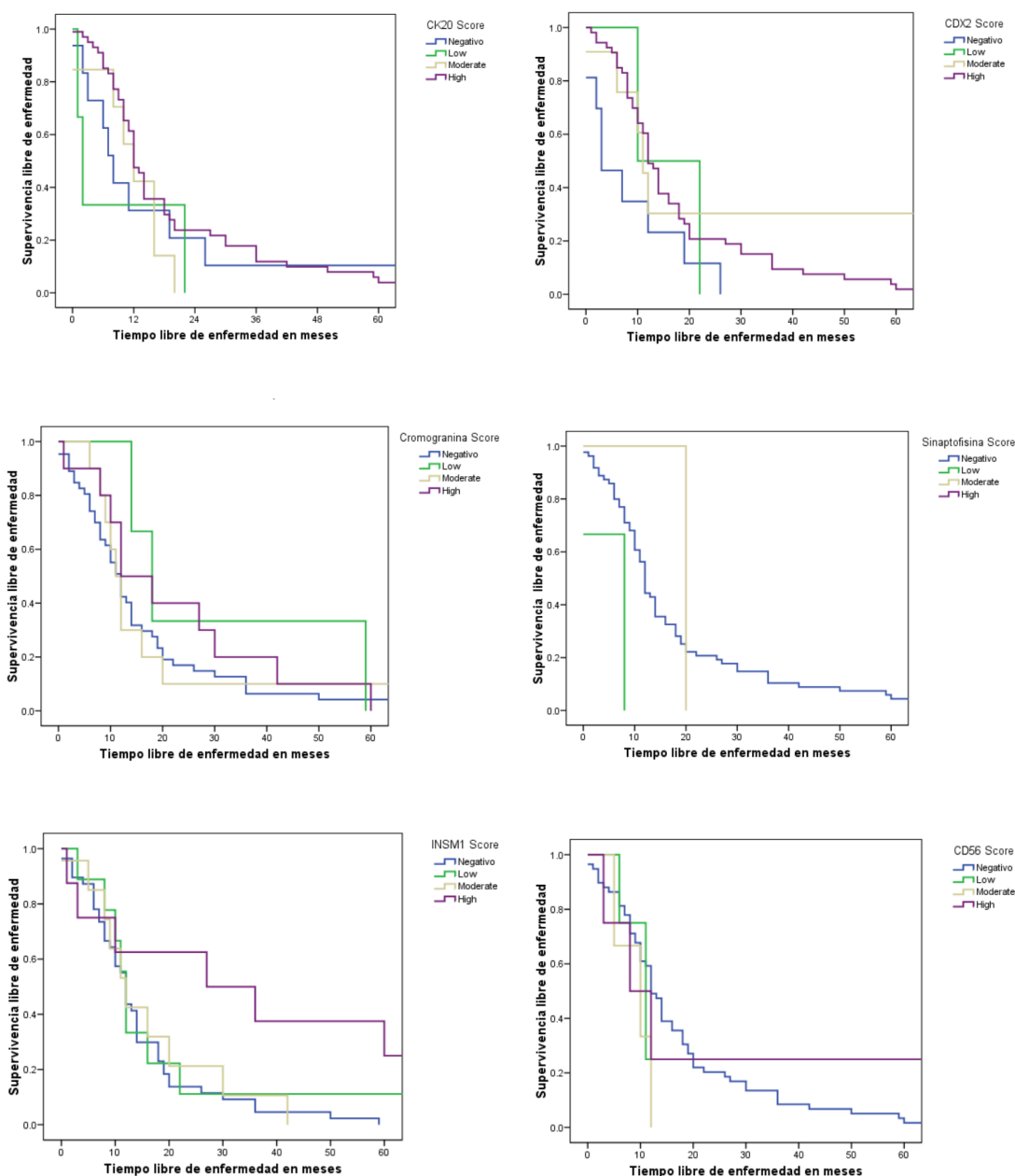


Figura 10: Análisis de supervivencia libre de enfermedad de acuerdo con el Score de expresión evaluados mediante curvas de Kaplan-Meier.

5.3 La expresión positiva de marcadores neuroendocrinos se asoció con una mayor proporción de pacientes vivos al cierre del seguimiento.

La evaluación del estado vital al cierre del seguimiento se realizó en función de la expresión inmunohistoquímica de cada uno de los marcadores. En relación a la cromogranina se observó una mayor proporción de pacientes con expresión negativa 62.3% (86/138), mientras que los grupos Bajo, Moderado y Alto representaron el 5.7% (8/138), 19.5% (27/138) y 12.3% (17/138), respectivamente. El grupo Negativo presentó una mortalidad por tumor de 44.2% (n=38), mientras que el 41.9% (n=36) estaba vivo al final del seguimiento. Por otro lado, los grupos con expresión positiva mostraron un ligero predominio de pacientes vivos sobre fallecidos por tumor, especialmente en el grupo Moderado (48.1% vivos vs. 33.3% muertos por tumor) y el grupo Alto (47 % vivos vs. 35.2% muertos por tumor). Si bien estas diferencias podrían sugerir una tendencia hacia mejor pronóstico en pacientes con expresión positiva, las proporciones no alcanzan diferencias marcadas y concuerdan con la falta de significancia estadística en el análisis de supervivencia ($p=0.503$) (**Tabla 6**).

Score cromogranina	Estado			Total (%)
	Vivo (%)	Muerto por tumor (%)	Muerto por otra causa (%)	
Negativo	36 (41.8)	38 (44.1)	12 (13.9)	86
Low	4 (50)	3 (37.5)	1 (12.5)	8
Moderate	13 (48.1)	9 (33.3)	5 (18.5)	27
High	8 (47)	6 (35.2)	3 (17.6)	17
Total	61 (44.2)	56 (40.5)	21 (15.2)	138

Tabla 6: Relación entre la expresión de Cromogranina y el estado vital en pacientes con ITAC.

En la distribución por score de sinaptofisina, la mayoría de los casos correspondió al grupo con expresión negativa 94.2% (130/138), lo cual refleja la baja frecuencia de positividad para este marcador en la cohorte estudiada. Solo se identificaron 8 casos con expresión positiva (Bajo, Moderado, Alto), siendo la categoría Alta la menos representada (n=2). Dentro del grupo Negativo, el 43.1% (n=56) de los pacientes se encontraban vivos al cierre del seguimiento, mientras que un porcentaje similar (41.5%, n=54) había fallecido por progresión tumoral. Un 15.4% (n=20) murió por

otras causas no relacionadas. Entre los pocos pacientes con expresión positiva, no se observaron muertes por tumor en los grupos Moderado y Alto, lo que podría sugerir un comportamiento menos agresivo en los casos con expresión de sinaptofisina; sin embargo, el bajo número de casos positivos limita cualquier conclusión estadísticamente robusta (**Tabla 7**).

Score Sinaptofisina	Estado			Total (%)
	Vivo (%)	Muerto por tumor (%)	Muerto por otra causa (%)	
Negativo	56 (43)	54 (41.5)	20 (15.3)	130
Low	1 (33.3)	2 (66.6)	0 (0)	3
Moderate	2 (66.6)	0 (0)	1 (33.3)	3
High	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2
Total	61 (44.2)	56 (40.5)	21 (15.2)	138

Tabla 7: Relación entre la expresión de Sinaptofisina y el estado vital en pacientes con ITAC.

El análisis de distribución de estados según el score de INSM1 muestra una expresión más equilibrada entre las categorías, aunque el grupo Negativo sigue siendo el más prevalente (60.9%, n=84). Los grupos Bajo, Moderado y Alto representaron el 13.0% , 16.7% y 9.4% de los casos, respectivamente. En el grupo Negativo, se observó una proporción alta de mortalidad por tumor (44.0%, n=37), similar al número de pacientes vivos (44.0%, n=37), mientras que 10 pacientes (11.9%) murieron por causas no oncológicas. En contraste, los grupos con expresión positiva mostraron mayores proporciones de pacientes vivos, especialmente el grupo Moderado (47.8%, n=11 vivos) y el grupo Alto (38.5%, n=5 vivos). Aunque el número absoluto de casos es bajo en los grupos positivos, esta distribución sugiere una posible asociación entre la expresión de INSM1 y mejor supervivencia, respaldando la tendencia observada en el análisis de supervivencia (p=0.057) (**Tabla 8**)

Score INSM1	Estado			Total (%)
	Vivo (%)	Muerto por tumor (%)	Muerto por otra causa (%)	
Negativo	37 (44)	37 (44)	10 (11.9)	84
Low	8 (44.4)	6 (33.3)	4 (22.2)	18
Moderate	11 (47.8)	7 (30.4)	5 (21.7)	23
High	5 (38.4)	6 (46.1)	2 (15.3)	13
Total	61 (44.2)	56 (40.5)	21 (15.2)	138

Tabla 8: Relación entre la expresión de INSM1 y el estado vital en pacientes con ITAC.

En la distribución por score de CD56, la mayoría de los casos correspondió al grupo con expresión negativa, representando el 82.6% (114/138) de la cohorte, lo cual indica una baja frecuencia de positividad para este marcador en los pacientes con ITAC. Solo se identificaron 24 casos con expresión positiva (Bajo, Moderado o Alto), siendo la categoría Moderado la menos representada (n=5). Dentro del grupo Negativo, el 43.9% (n=50) de los pacientes se encontraban vivos al cierre del seguimiento, mientras que un porcentaje similar (40.4%, n=46) había fallecido por progresión tumoral. Un 15.8% (n=18) murió por otras causas no relacionadas. En cuanto a los pacientes con expresión positiva, se observó que en el grupo Alto no se registraron muertes por tumor, al igual que en el grupo Moderado. En contraste, en el grupo Bajo sí se reportaron 3 muertes por tumor (30%) (**Tabla 9**).

Score CD56	Estado			Total (%)
	Vivo (%)	Muerto por tumor (%)	Muerto por otra causa (%)	
Negativo	50 (43.8)	46 (40.3)	18 (15.7)	114
Low	6 (60)	3 (30)	1 (10)	10
Moderate	0 (0)	3 (60)	2 (40)	5
High	5 (55.5)	4 (44.4)	0 (0)	9
Total	61 (44.2)	56 (40.5)	21 (15.2)	138

Tabla 9: Relación entre la expresión de CD56 y el estado vital en pacientes con ITAC.

6. DISCUSIÓN

El adenocarcinoma nasosinusal de tipo intestinal (ITAC) es una entidad rara, con una incidencia baja pero una elevada agresividad clínica, con una marcada asociación ocupacional, especialmente con la exposición a polvo de madera (3,9,22). En el presente estudio se ha caracterizado la expresión inmunohistoquímica de marcadores intestinales (CDX2 y CK20) y neuroendocrinos (cromogranina A, sinaptofisina, INSM1 y CD56), y se ha evaluado su posible valor pronóstico.

Como era esperable, los marcadores intestinales CDX2 y CK20 se expresaron en la mayoría de los casos, confirmando el fenotipo intestinal del ITAC. La alta expresión de CDX2 (77.5% con score alto) confirma su utilidad diagnóstica y refleja una diferenciación hacia epitelio intestinal, como ha sido descrito por Llorente et al. y Vivanco et al. (2,20,25). Además, en este estudio, el score moderado de CDX2 se asoció significativamente con una mejor supervivencia global ($p=0.042$), y también

con mayor supervivencia libre de enfermedad ($p=0.024$), lo que refuerza su potencial como biomarcador pronóstico en ITAC, tal como se planteó McKinney et al. (21,32). Por el contrario, CK20, aunque mostró una expresión elevada (71.7% con score alto), no presentó asociación significativa con la supervivencia, lo cual es consistente con su rol principalmente diagnóstico, hallazgo coherente con lo reportado por Ozolek et al. (12), quienes encontraron que su valor diagnóstico es evidente, pero su papel pronóstico es limitado. Este marcador no mostró utilidad pronóstica clara en esta cohorte, a pesar de su papel en la identificación del fenotipo intestinal.

Respecto a los marcadores neuroendocrinos, su expresión fue mucho más variable y limitada, se observó una expresión globalmente baja, destacando la limitada positividad de sinaptofisina (solo 1.4% con score alto) y CD56 (6.5% con score alto), lo que sugiere que la diferenciación neuroendocrina, aunque presente, no es común ni uniforme en el ITAC (13). Aun así, se identificaron tendencias clínicamente interesantes. Por ejemplo, la expresión moderada de CD56 se asoció con peor pronóstico, con una tasa de mortalidad del 100% en ese subgrupo, mientras que la expresión alta se relacionó con mayor proporción de pacientes vivos al cierre del seguimiento, aunque sin alcanzar significancia estadística ($p=0.257$). Este comportamiento sugiere un posible patrón no lineal de asociación, que requeriría validación (18,35).

INSM1, un marcador nuclear recientemente incorporado en el panel de tumores neuroendocrinos (15), mostró una mayor heterogeneidad en su expresión. Aunque no se observó una asociación significativa con la supervivencia global ($p=0.980$), sí se identificó una tendencia cercana a la significancia en la supervivencia libre de enfermedad ($p=0.057$), con mejores resultados en los pacientes con score alto. Esta observación está en línea con estudios que han mostrado que INSM1 puede superar en sensibilidad a cromogranina y sinaptofisina en otros contextos neuroendocrinos (15,17). Esta utilidad también ha sido respaldada por datos recopilados en PathologyOutlines.

Cromogranina, a pesar de ser uno de los marcadores neuroendocrinos clásicos, no mostró asociación significativa con la supervivencia global ($p=0.850$) ni con la SLE ($p=0.503$), lo cual coincide con resultados previos que señalan una expresión variable y poco específica en el ITAC (13,16). Similar fue el caso para sinaptofisina,

donde se observó una tendencia visual favorable para el grupo con score alto, pero sin significancia estadística ($p=0.587$). Cabe destacar que en cáncer de pulmón, la positividad de sinaptofisina se ha asociado a peor pronóstico (16), mientras que en esta serie, se identificó una posible correlación inversa. Este comportamiento ya ha sido señalado en estudios como el de González-Aragoneses et al. (16), quienes encontraron correlación entre la expresión de sinaptofisina y la supervivencia en cáncer pulmonar, aunque no en ITAC específicamente.

Desde el punto de vista molecular, los ITAC muestran un perfil genético complejo pero relativamente estable como han referido Riobello et al. (21), Díaz-Molina et al. (29), Codina-Martínez et al. (32) y Hermsen et al. (20), han encontrado la presencia de mutaciones en vías como Wnt, ERK, PI3K y reparación del ADN, y una baja frecuencia de inestabilidad de microsatélites, que pueden influir en la biología tumoral más allá de la expresión inmunohistoquímica (6,8,19,21,29,32). Estas vías pueden explicar, al menos en parte, la heterogeneidad en la expresión de marcadores y el comportamiento biológico observado.

La fuerte asociación histórica del ITAC con la exposición prolongada al polvo de madera y la activación inflamatoria crónica respalda la hipótesis de una transformación progresiva desde epitelio normal hacia una metaplasia intestinal y, posteriormente, hacia una neoplasia maligna (9,22,30).

En términos clínicos, la expresión positiva de marcadores neuroendocrinos no se asoció significativamente con la supervivencia global ni con la SLE en la mayoría de los casos; este hallazgo refuerza lo publicado en estudios como el de Pérez-Escuredo et al. (7), en el que, si bien se describieron perfiles inmunohistoquímicos amplios, no se estableció un claro valor pronóstico de estos marcadores. No obstante, el análisis sugiere que ciertos patrones de expresión, como la coexpresión de CD56 o INSM1 en niveles altos, podrían tener valor pronóstico en subgrupos específicos. La presencia de expresión neuroendocrina en un tumor típicamente intestinal podría reflejar un grado de plasticidad fenotípica, ya señalado en publicaciones como las de Hoeben et al. (10) y Turri-Zanoni et al. (34), lo que abre la posibilidad de reconsiderar ciertos subtipos dentro del espectro de los ITAC.

Es posible que, mediante otras estrategias de evaluación de los marcadores neuroendocrinos, se identifiquen correlaciones relevantes o estadísticamente significativas. Por ejemplo, en el caso de los marcadores neuroendocrinos (NE), podría considerarse una valoración conjunta, en la que la presencia de un score alto en al menos uno de los cuatro marcadores sea suficiente para clasificar un caso como positivo (37).

Por último, nuestros resultados deben interpretarse a la luz de ciertas limitaciones, entre ellas el bajo número de casos con expresión positiva de los marcadores neuroendocrinos y la posible pérdida de información clínica en un estudio retrospectivo. No obstante, el análisis de un número considerable de casos ha sido posible gracias a que somos el centro con mayor número de casos reportados de ITAC en España, lo que refuerza la relevancia y representatividad de nuestros hallazgos. Este trabajo aporta evidencia sobre la posible utilidad clínica de marcadores como CDX2 y plantea nuevas hipótesis sobre el papel de la diferenciación neuroendocrina en el ITAC.

7. CONCLUSIÓN

1. Los resultados del presente estudio confirman que los marcadores de diferenciación intestinal CDX2 y CK20 se expresan de forma elevada en la mayoría de los casos de adenocarcinoma nasosinusal de tipo intestinal (ITAC), reafirmando su utilidad como herramientas diagnósticas. Destaca especialmente CDX2, cuya expresión moderada se asoció significativamente con una mejor supervivencia global y libre de enfermedad, lo que sugiere un posible valor pronóstico en este contexto tumoral. En contraste, los marcadores de diferenciación neuroendocrina presentaron una expresión globalmente baja y heterogénea, un hallazgo que era esperable dado que el ITAC no suele mostrar un fenotipo neuroendocrino marcado.
2. CK20 y CDX2 presentan una alta frecuencia de expresión en los estadios tempranos (I y II), con 26 y 13 casos de expresión alta para CK20, y 28 y 14 casos para CDX2, respectivamente. Esta tendencia disminuye progresivamente en los estadios avanzados (IVa y IVb), lo cual sugiere que la diferenciación intestinal es más marcada en fases iniciales de la enfermedad. Este hallazgo podría reflejar una pérdida progresiva de diferenciación

intestinal conforme el tumor avanza, lo que indicaría una transformación fenotípica hacia formas más indiferenciadas o agresivas. Cromogranina muestra una expresión mayoritariamente negativa en todos los estadios, aunque con cierta tendencia a una mayor expresión moderada/alta en los estadios III y IVa. Sinaptofisina sigue un patrón similar, con 130 casos negativos en total y solo 8 casos con alguna expresión (moderada o alta), distribuidos sobre todo en estadios III y IV. INSM1 presenta una expresión algo más elevada que los marcadores clásicos, con 19 casos en total con expresión moderada o alta, particularmente en los estadios III y IVa/IVb. Esto sugiere que INSM1 puede detectar diferenciación neuroendocrina en fases más avanzadas del tumor, posicionándose como un posible marcador pronóstico o indicador de progresión. CD56, en cambio, es negativo en 114 de los 138 casos, con solo 6 casos con expresión moderada o alta, sin una distribución clara por estadio, lo que limita su utilidad diagnóstica o pronóstica.

3. No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas con la supervivencia; sin embargo, se observaron ciertas tendencias favorables en subgrupos con expresión alta de INSM1 y CD56, lo que plantea la posibilidad de un valor pronóstico en contextos clínicos o moleculares específicos que merece ser explorado en futuras investigaciones.
4. La detección de expresión neuroendocrina en tumores de tipo intestinal sugiere además un grado de plasticidad fenotípica en el ITAC, lo que podría tener implicaciones tanto diagnósticas como terapéuticas. A nivel molecular, estos tumores muestran una notable estabilidad genética junto con alteraciones recurrentes en las vías de señalización Wnt, ERK y PI3K, reforzando la necesidad de enfoques integradores que combinen el análisis inmunohistoquímico con la caracterización genómica para lograr una estratificación pronóstica más precisa. En conjunto, los hallazgos de este estudio subrayan la importancia de seguir investigando la biología del ITAC mediante estudios prospectivos y multicéntricos con mayor tamaño muestral, que permitan validar estos resultados y avanzar hacia una medicina más personalizada.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Lobbosco ES, et al. Anatomy of the nose and paranasal sinuses: endoscopic and imaging-based. *Rev Argent Anat Online*. 2021;12(1):17–24. Available from:<https://research.ebsco.com/linkprocessor/plink?id=f7524cbe-681d-34fa-9d11-56a7e3293124>
2. Llorente JL, Aldama P, Alvarez-Marcos C, Escudero J, Alonso-Guervós M, Fresno F, et al. Nasosinusal adenocarcinoma: molecular and genetic analysis by MLPA. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2008;59(4):151–8.
3. López F, Llorente JL, Costales M, García-Inclán C, Pérez-Escuredo J, Alvarez-Marcos C, et al. Molecular characterisation of sinonasal carcinomas and their clinical implications. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2013;64(4):289–96. doi:10.1016/j.otorri.2012.03.002
4. Vivanco B, Llorente JL, Perez-Escuredo J, Alvarez-Marcos C, Fresno MF, Hermsen MA. Benign lesions in mucosa adjacent to intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. *Pathol Res Int*. 2011;2011:230147. doi:10.4061/2011/230147
5. Franchi A, Leivo I, Patil A, et al. Intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. In: *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2024. Vol. 9.
6. Llorente JL, López F, Suárez C, Hermsen MA. Sinonasal carcinoma: clinical, pathological, genetic and therapeutic advances. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014;11(8):460–72. doi:10.1038/nrclinonc.2014.97
7. Vivanco Allende B, Perez-Escuredo J, Fuentes Martínez N, Fresno Forcelledo MF, Llorente Pendás JL, Hermsen M. Intestinal-type sinonasal adenocarcinomas: immunohistochemical profile of 66 cases. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2013;64(2):115–23. doi:10.1016/j.otorri.2012.09.002
8. Martínez JG, Pérez-Escuredo J, López F, Suárez C, Alvarez-Marcos C, Llorente JL, et al. Microsatellite instability analysis of sinonasal carcinomas. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;140(1):55–60. doi:10.1016/j.otohns.2008.10.038
9. Lund VJ, Chisholm EJ, Takes RP, Suárez C, Mendenhall WM, Rinaldo A, et al. Evidence for treatment strategies in sinonasal adenocarcinoma. *Head Neck*. 2012;34(8):1168–78. doi:10.1002/hed.21770

10. Hoeben A, van de Winkel L, Hoebbers F, Kross K, Driessen C, Slootweg P, et al. Intestinal-type sinonasal adenocarcinomas: the road to molecular diagnosis and personalised treatment. *Head Neck*. 2016;38(10):1564–70. doi:10.1002/hed.24416
11. CDX2. PathologyOutlines.com [Internet]. Available from: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/stainscdx2.html> [Accessed 25 Apr 2025].
12. Ozolek JA, Barnes EL, Hunt JL. Basal/myoepithelial cells in chronic sinusitis, respiratory epithelial adenomatoid hamartoma, inverted papilloma, and intestinal-type and nonintestinal-type sinonasal adenocarcinoma: an immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(4):530–7.
13. McKinney CD, Mills SE, Franquemont DW. Sinonasal intestinal-type adenocarcinoma: immunohistochemical profile and comparison with colonic adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 1995;8:421–6.
14. Bartolomucci A, Possenti R, Mahata SK, Fischer-Colbrie R, Loh YP, Salton SR. The extended granin family: structure, function, and biomedical implications. *Endocr Rev*. 2011;32(6):755–97. doi:10.1210/er.2010-0027
15. Sakakibara R, Kobayashi M, Takahashi N, et al. INSM1 is a better marker for diagnosis and prognosis estimation of small cell lung carcinoma than chromogranin A, synaptophysin, and CD56. *Am J Surg Pathol*. 2020;44(6):757–64. doi:10.1097/PAS.0000000000001444
16. González-Aragoneses F, et al. Prognostic significance of synaptophysin in stage I squamous carcinoma and adenocarcinoma of the lung. *Cancer*. 2007;110(8):1776–81. doi:10.1002/cncr.22985
17. INSM1. PathologyOutlines.com [Internet]. Available from: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/stainsinsm1.html> [Accessed 25 Apr 2025].
18. CD56. PathologyOutlines.com [Internet]. Available from: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/cdmarkerscd56.html> [Accessed 25 Apr 2025].
19. Riobello C, et al. Aberrant signalling pathways in sinonasal intestinal-type adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13(19):5022. doi:10.3390/cancers13195022

20. Hermsen MA, et al. Genome-wide analysis of genetic changes in intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. *Head Neck*. 2009;31(3):290–7. doi:10.1002/hed.20973
21. Riobello C, et al. Next-generation sequencing reveals remarkable genetic stability in primary and recurrent intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. *Head Neck*. 2024;46(8):2010–9. doi:10.1002/hed.27694
22. Llorente JL, et al. Genetic and clinical aspects of wood dust-related intestinal-type sinonasal adenocarcinoma: a review. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2009;266(1):1–7. doi:10.1007/s00405-008-0749-y
23. García-Marín R, et al. CD8+ tumour-infiltrating lymphocytes and tumour microenvironment immune types as biomarkers for immunotherapy in sinonasal intestinal-type adenocarcinoma. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(2):202. doi:10.3390/vaccines8020202
24. Abecasis J, et al. Adenocarcinomas of the nasal cavity and paranasal sinuses: a clinicopathological and immunohistochemical study of 14 cases. *Histopathol*. 2004;45:254–9.
25. Leivo I. Sinonasal adenocarcinoma: update on classification, immunophenotype and molecular features. *Head Neck Pathol*. 2016;10:68–74. doi:10.1007/s12105-016-0694-9
26. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH, editors. *TNM classification of malignant tumours*. 7th ed. Chichester (UK): Wiley-Blackwell; 2009.
27. Mebratie DY, Dagnaw GG. Review of immunohistochemistry techniques: applications, current status, and future perspectives. *Semin Diagn Pathol*. 2024;41(3):154–60. doi:10.1053/j.semdp.2024.05.001
28. Llorente JL, et al. Sinonasal adenocarcinomas: our experience. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2008;59(5):235–8. doi:10.1016/s2173-5735(08)70229-1
29. Díaz-Molina JP, et al. Wnt-pathway activation in intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. *Rhinology*. 2011;49(5):593–9. doi:10.4193/Rhino.11.037
30. Pérez-Escuredo J, et al. Wood dust-related mutational profile of TP53 in intestinal-type sinonasal adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2012;43(11):1894–901. doi:10.1016/j.humpath.2012.01.016
31. Costales M, et al. Establishment and characterisation of an orthotopic sinonasal squamous cell carcinoma mouse model. *Head Neck*. 2015;37(12):1769–75. doi:10.1002/hed.23832

32. Codina-Martínez H, et al. Signalling pathways mTOR and ERK as therapeutic targets in sinonasal intestinal-type adenocarcinoma. *Int J Mol Sci.* 2023;24(20):15110. doi:10.3390/ijms242015110
33. Arcovito G, Franchi A. Sinonasal adenocarcinomas: an update. *Surg Pathol Clin.* 2024;17(4):653–66. doi:10.1016/j.path.2024.07.005
34. Turri-Zanoni M, Gravante G, Castelnovo P. Molecular biomarkers in sinonasal cancers: new frontiers in diagnosis and treatment. *Curr Oncol Rep.* 2022;24(1):55–67. doi:10.1007/s11912-021-01154-3
35. Jain R, et al. Composite intestinal-type adenocarcinoma and small cell carcinoma of sinonasal tract. *J Clin Pathol.* 2009;62(7):634–7. doi:10.1136/jcp.2009.065433
36. Alpuim Costa D, et al. A potential link between prolonged cork exposure and intestinal-type sinonasal adenocarcinoma: special findings of a retrospective cohort analysis. *Front Oncol.* 2020;10:565036. doi:10.3389/fonc.2020.565036
37. Franchi A, et al. Intestinal metaplasia of the sinonasal mucosa adjacent to intestinal-type adenocarcinoma: a morphologic, immunohistochemical, and molecular study. *Virchows Arch.* 2015;466(2):161–8. doi:10.1007/s00428-014-1696-1
38. Valente G, et al. Evidence of p53 immunohistochemical overexpression in ethmoidal mucosa of woodworkers. *Cancer Detect Prev.* 2004;28:99–106.
39. Franchi A, Massi D, Palomba A, Biancalani M, Santucci M. CDX-2, cytokeratin 7 and cytokeratin 20 immunohistochemical expression in the differential diagnosis of primary adenocarcinomas of the sinonasal tract. *Virchows Arch.* 2004;445(1):63–7. doi:10.1007/s00428-004-1030-4
40. Rooper LM, Bishop JA, Westra WH. INSM1 is a sensitive and specific marker of neuroendocrine differentiation in head and neck tumours. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(5):665–71. doi:10.1097/PAS.0000000000001037
41. Kleinsasser O, Schroeder HG. Adenocarcinomas of the inner nose after exposure to wood dust: morphological findings and relationships between histopathology and clinical behaviour in 79 cases. *Arch Otorhinolaryngol.* 1988;245(1):1–15. doi:10.1007/BF00463541