

Sistema neuroendocrino del páncreas y tracto gastrointestinal: origen y desarrollo

JOSÉ ÁNGEL DÍAZ PÉREZ

Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

NEUROENDOCRINE SYSTEM OF THE PANCREAS AND GASTROINTESTINAL TRACT: ORIGIN AND DEVELOPMENT

Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours (GEP NETs) originate from the neuroendocrine cells through the gastrointestinal tract and endocrine pancreas. The embryologic development of the pancreas is a complex process that begins with the "stem cell" that come from the endodermis. These cells go through two phases: in the first transition the "stem cell" differentiates in exocrine and endocrine cells. This process is regulated by transcription factors such as Pdx1 ("insulin promoter factor 1"), Hlxb6 and SOX9. In the second transition the neuroendocrine cell differentiates in the 5 cell types (α , β , δ , PP y ϵ). This process is regulated through the balance between factors favoring differentiation (mainly neurogenin 3) and inhibitor factors which depend on Notch signals. The existence of a third transition in postnatal pancreas is hypothesized. The "stem cell" from pancreatic ducts would become adult β cells, through autoduplication and neogenesis.

In the small gut of the adult the stem cell are placed in the intestinal crypts and develop to villi in secretor lines (enterocytes, goblet and Paneth cells) or neuroendocrine cells from which at least 10 cell types depend. This process is regulated by transcription factors: Math1, neurogenin 3 and NeuroD.

Key words: Neuroendocrine "stem cell". Neurogenin 3. Notch signals. Congenital malabsorptive diarrhea.

Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos derivan de las células neuroendocrinas dispersas a través del tracto gastrointestinal y del páncreas endocrino. El desarrollo embriológico del páncreas es un proceso complejo que se inicia a partir de células madre pluripotenciales que provienen del endodermo, y que atraviesa 2 fases: la primera transición, en la que la célula madre se diferencia en células exocrinas y endocrinas y que está mediada por factores de transcripción como Pdx1 (*insulin promoter factor 1*), Hlxb6 y SOX9, y la segunda transición, en la que la célula madre neuroendocrina se diferencia en los 5 tipos celulares del páncreas: células α , β , δ , PP y ϵ . Este proceso está modulado por un equilibrio entre factores que favorecen la diferenciación, el más importante neurogenina 3, y factores inhibidores que dependen de las señales de Nocht. Se postula la existencia de una tercera transición en el páncreas posnatal en el que las células madre de los conductos pancreáticos se convertirían en células β adultas, mediante autoduplicación o neogénesis.

En el intestino delgado del adulto las células madre se sitúan en las criptas intestinales y se diferencian hacia los villi en líneas secretoras (enterocitos, células caliciformes y células de Paneth) o neuroendocrinas de las que dependen al menos 10 tipos celulares. Este proceso está regulado por factores de transcripción como Math1, neurogenina 3 y NeuroD.

Palabras clave: Células madre neuroendocrinas. Neurogenina 3. Señales de Nocht. Síndrome de diarrea malabsortiva congénita.

INTRODUCCIÓN

Las células neuroendocrinas se disponen en el organismo formando glándulas como la hipófisis, las glándulas paratiroides, médula suprarrenal y paraganglios o de forma difusa a lo largo del tracto digestivo, en el páncreas endocrino, tracto biliar, tracto respiratorio, tracto urogenital, timo, piel y tiroides (células C). Los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos (TEGEP) derivan de las célu-

Correspondencia: José Ángel Díaz Pérez.
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Carlos.
Profesor Martín Lagos, s/n. 2804 Madrid. España.
Correo electrónico: joseangeldiaz@mixmap.com

las neuroendocrinas del páncreas y del tracto gastrointestinal. Desde la descripción de los tumores carcinoides por Oberndörfern hace 100 años¹, los tumores neuroendocrinos gastrointestinales se han denominado de diversas formas: tumores carcinoides, APUDomas, tumores del sistema endocrino difuso (SED) y tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos (TEGEP).

El sistema neuroendocrino está compuesto por células que presentan algunas similitudes con las células neuronales: producen neuropéptidos, neurotransmisores y neuromoduladores; presentan gránulos de secreción, y su desarrollo embrionario está modulado en parte por factores de transcripción comunes como Math1, NeuroD, Pax4, Pax6 y factores de la familia bHLH (*helix-loop-helix transcription factor*), pero carecen de axones y sinapsis. Expresan marcadores similares a las células del sistema nervioso central (SNC) como sinaptofisina, enolasa neuronal específica (NSE) y cromograninas y enzimas como tirosina hidroxilasa, fenilalanina metiltransferasa y CART (*cocaine- and amphetamine-regulated transcript*)^{2,3}.

Hay al menos 15 péptidos secretados por células neuroendocrinas en estómago, intestino y páncreas. Dichos péptidos regulan la homeostasia de la glucosa, la secreción pancreática exocrina, la motilidad y el vaciamiento gástrico, la secreción ácida gástrica, el crecimiento y reparación del epitelio intestinal y otras numerosas funciones. En el páncreas hay 5 tipos celulares con una secreción hormonal específica: células α , β , δ , PP y ϵ , que secretan respectivamente glucagón, insulina, somatostatina, polipéptido pancreático y ghrelina. En el estómago existen 6 tipos celulares: α (glucagón), G (gastrina), PP, X/A (ghrelina), EC (células enterocromafines: serotonina) y células ECL (semejantes a las enterocromafines que secretan histamina). En el intestino hay al menos 10 tipos celulares distintos: células D (somatostatina), D1 (polipéptido intestinal vasoactivo [VIP]), I (CCK: colecistocinina), K (polipéptido gastrointestinal [GIP]), M (motilina), N (neurotensina), L (glucagón péptido-like [GLP-1]), PYY (péptido YY), S (secretina), P/D1 (ghrelina).

Los conocimientos sobre el desarrollo embriológico del sistema neuroendocrino nos permitirán profundizar en las vías de señalización, proliferación e inhibición del crecimiento celular de los tumores neuroendocrinos GEP. Algunos de los factores de la embriogénesis de las células neuroendocrinas están implicados en la etiopatogenia de enfermedades como la diabetes mellitus tipo MODY 4 (mutaciones en *Pdx1*: *pancreatic duodenal homeobox gen 1*) y más recientemente el “síndrome de diarrea malabsortiva congénita” producido por mutaciones en neurogenina 3. Uno de los campos de mayor interés es el desarrollo del sistema neuroendocrino del páncreas, en concreto de las células β , tanto la embriogénesis como la neogénesis y la rediferenciación celular; conocimientos que nos están abriendo camino en el terreno de la medicina regenerativa y la terapia celular con células madre como un futuro tratamiento de la diabetes mellitus.

Revisión histórica

Heidenhain (1834-1897) fue el primer investigador en identificar células enterocromafines del tracto gastrointestinal⁴ y Paul Langerhans (1847-1888) descubrió los islotes de Langerhans del páncreas⁵. El primer investigador que acuñó el término de célula enterocromafín fue M. Ciacco (1877-1956)⁶.

En 1914, Pierre Manson (1880-1959) describió la técnica de tinción argéntica que permitió identificar las células neuroendocrinas. El concepto de tumor neuroendocrino lo acuña por primera vez Antonio Gosset (1872-1944), quien postula el origen endocrino de los tumores carcinoides intestinales y sugiere una relación del sistema endocrino con el sistema neuronal⁷. Feyrter define el sistema endocrino difuso, que pretende englobar a todas las células neuroendocrinas dispersas por todo el organismo⁸.

Pearse propone el término de sistema APUD (1916-2003) que define la capacidad de las células neuroendocrinas para captar y descarboxilar precursores de aminas biógenas “*amine precursor uptake and decarboxylation*”⁹. En 1971 propone que las células neuroendocrinas derivan de la cresta neural. Estudia embriones de pollo en los que muestra que en el día 8 células marcadas de la cresta neural migran en dirección ventral hacia el intestino¹⁰. Desde entonces comenzó un intenso debate sobre el origen de las células del sistema neuroendocrino: ¿derivan de la cresta neural o del endodermo? Hay algunos indicios acerca del origen neural de dichas células: en algunos animales invertebrados (insectos y gusanos) se ha demostrado la presencia de células productoras de insulina en el cerebro¹¹. Las células del SNC y las células neuroendocrinas comparten marcadores comunes como gránulos de secreción, NSE, cromogranina A y factores de transcripción comunes como NeuroD y Pdx1¹².

Estudios más recientes con animales transgénicos muestran que las células neuroendocrinas del estómago e intestino delgado derivan de células madre precursoras comunes que se diferencian en los distintos tipos de células neuroendocrinas¹³⁻¹⁶. Los modelos animales en embriogénesis del sistema neuroendocrino, embriones de ratones y *zebrafish*, nos muestran el origen endodérmico del sistema neuroendocrino^{17,18}. En seres humanos, un estudio de mutaciones en mitocondrias (“cox”: deficiencia de citocromo oxidasa), se verifica la expansión monoclonal de las células madre neuroendocrinas de las criptas intestinales¹⁹. Con estos datos, parece más evidente que las células neuroendocrinas del páncreas, estómago y aparato digestivo derivan del endodermo más que de la cresta neural.

Desarrollo embriológico del páncreas endocrino

En animales vertebrados el páncreas es un órgano con doble función: el páncreas exocrino formado por células que forman acinos y conductos: secretan enzimas (proteasas, lipasas, amilasas y nucleasas) y bicarbonato que

digieren los distintos principios inmediatos de la ingesta; y el páncreas endocrino formado por células neuroendocrinas que se disponen en islotes que secretan insulina, glucagón, somatostatina, PP y ghrelina. El modelo animal mejor estudiado en embriogénesis del sistema neuroendocrino es el del embrión de ratón¹⁸. En el día E8.5 se inicia la formación del páncreas a partir de 2 pequeños sacos que derivan de células del endodermo del tubo digestivo: el páncreas ventral y el páncreas dorsal. Rutter postula 2 fases en la embriogénesis pancreática: la primera y la segunda transición^{20,21}. En la primera transición, a partir de células madre pluripotenciales del endodermo se inicia la diferenciación de células madre exocrinas, que formarán conductos y acinos, y de células madre precursoras de las células neuroendocrinas²²⁻²⁴. En la segunda transición se inicia el proceso de diferenciación desde la célula pluripotencial neuroendocrina en los distintos tipos celulares endocrinos: células α , β , δ , PP y ϵ ²⁵⁻²⁷ (fig. 1). Este proceso está modulado por factores de transcripción que favorecen la diferen-

ciación endocrina (Pdx1, PAX, neurogenina 3) y otros que la bloquean (señales de Noth) (tabla 1). Factores externos como el factor de transformación del crecimiento beta (TGF- β) promueven también la diferenciación endocrina a expensas del bloqueo exocrino²⁸. Actualmente hay autores que postulan la presencia de una tercera transición posnatal, refiriéndose sobre todo a la neogénesis de nuevas células β a partir de células madre situadas en los conductos pancreáticos^{29,30}.

Señales de la primera transición

El factor más estudiado es Pdx1 o factor promotor de insulina (IPF-1). Es el primer factor que aparece en la célula madre pancreática. Se expresa también en el páncreas del adulto (sólo en células β) como factor de transcripción de la insulina³¹. La deficiencia de Pdx1 en ratones y en seres humanos produce agenesia pancreática^{32,33}. En seres humanos las mutaciones en el gen que codifica para Pdx1 son responsables de la diabetes mellitus tipo MODY 4³⁴.

Ratones *knockout* para HLxb6 presentan agenesia del páncreas dorsal, pero no afectan al páncreas ventral³⁵. La deficiencia del gen Ptf1a afecta sólo al páncreas exocrino. Otro importante factor es SOX9. Los ratones *knockout* para el gen que codifica para SOX9 presentan hipoplasia pancreática y ausencia de células neuroendocrinas³⁶.

Señales de la segunda transición

La diferenciación de las células neuroendocrinas pluripotenciales en las diversas estirpes celulares endocrinas del páncreas está mediada por un complejo

TABLA 1. Señales de transcripción que controlan el proceso de embriogénesis del páncreas

Células madre progenitoras	Células madre neuroendocrinas que se transforman en distintas líneas celulares neuroendocrinas
– Primera transición	– Segunda transición
– Pdx1	– Neurogenina 3
– Hlxb9	– Nkx2-2
– Ptf1a	– Pax6
– Nkx6-1 y Nkx2-3	– Pou3f4
– SOX9	

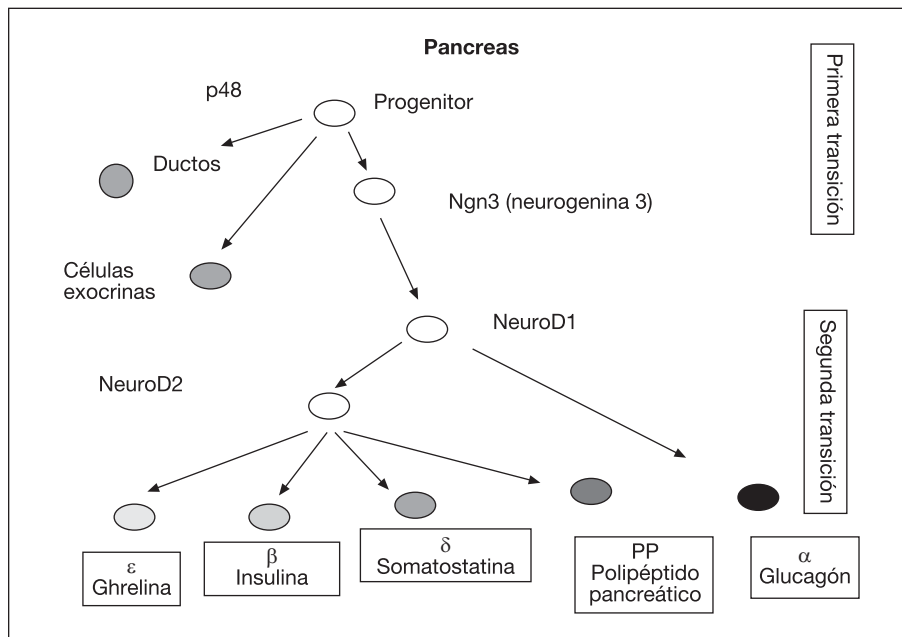


Fig. 1. Desarrollo embriológico del páncreas.

equilibrio de señales que favorecen o bloquean dicho proceso. El péptido más estudiado es la neurogenina 3, una proteína que pertenece a la familia de proteínas bHLH³⁷. Hay 3 tipos de neurogeninas: la neurogenina 1 y neurogenina 2 se encuentran en células del SNC y están implicadas en la selección de progenitores neurales y especificación de los distintos tipos de células gliales. La neurogenina 3 se localiza en células neuroendocrinas pluripotenciales del páncreas, estómago, intestino delgado y células de la cresta neural. La ausencia de neurogenina 3 en el SNC origina reducción de marcadores de oligodendrocitos y astrocitos³⁸. La expresión de neurogenina 3 entre los días E8.5 y E9 marca el inicio de la segunda transición del desarrollo del sistema neuroendocrino del páncreas³⁹.

Estudios realizados por Gradwohl con ratones *knockout* para neurogenina 3 muestran que dichos ratones carecen por completo de células neuroendocrinas en el páncreas y el tubo digestivo, nacen con intensa deshidratación, hiperglucemia, bajo peso y mueren al nacer. En el páncreas de dichos ratones la inmunohistoquímica para insulina, glucagón, somatostatina y PP es negativa en comparación con ratones *wild-type*⁴⁰.

En seres humanos se ha intentado relacionar sin éxito posibles mutaciones de neurogenina 3 con la diabetes tipo MODY. Sin embargo, se ha encontrado relación entre la diabetes mellitus tipo 2 y mutaciones en NeuroD, un péptido que interviene en la diferenciación específica de las células β , en fases más tardías que neurogenina 3^{41,42}. Recientemente Wang et al⁴³ han descrito un nuevo síndrome en 3 niños (35 meses, 8 y 9 años) que presentaban mutaciones en el gen que codifica para neurogenina 3. Desarrollaron un síndrome de diarrea crónica acuosa grave, con un volumen de diarrea entre 20-120 ml/kg de peso al día. Uno de ellos falleció por sepsis a los 2 años y otro desarrolló 2 años después diabetes mellitus tipo 1. Se obtuvieron biopsias de intestino delgado en las que se evidenció que la arquitectura de las vellosidades y las criptas intestinales estaba conservada, así como las células mucinosas y las células de Paneth, pero había una importante deficiencia de células neuroendocrinas (inmunohistoquímica negativa para sinaptofisina, cromogranina A, somatostatina y VIP). Se realizó secuenciación del ADN del gen que codifica para neurogenina 3, a partir de muestras de sangre obtenidas de los 3 pacientes. Uno de los pacientes presentaba una mutación *missense* que resultaba en una sustitución de un residuo de lisina por arginina en la posición 107 de la proteína (R107S), lugar donde empieza la primera hélice de la proteína, fundamental para la activación de otros genes que controlan el desarrollo del sistema neuroendocrino. En los otros 2 pacientes la mutación produjo un cambio similar en la posición 97 (R97S), región de unión de la proteína al ADN (*basic domain-DNA binding*)⁴³.

Otros factores que intervienen en la segunda transición son Nkx2-2, Pax-6 y Pouf3f4. Ratones mutantes para Nkx2-2 muestran disminución de la población de células β ^{44,45}. Pax-6 se expresa en todas las células neu-

roendocrinas del páncreas en el día 9, sobre todo en las células α . Continúa expresándose en las células adultas y actúa como un factor activado transcripcional de diversos genes de hormonas⁴⁶. Se expresa además en cerebro, tubo neural y ojos⁴⁷. Pouf3f4 funciona como activador transcripcional de la expresión del gen de glucagón⁴⁸.

Señales de inhibición de la diferenciación neuroendocrina

Notch es un receptor transmembrana que se activa por diversos ligandos, interacciona con la proteína de unión al ADN, RBP-jk, y activa la expresión de bHLH HES genes (*hairly enhancer of split*). La vía de Notch está involucrada fundamentalmente en la diferenciación neuronal y la hematopoyesis⁴⁹.

En el desarrollo de las células neuroendocrinas las señales de Notch parecen retrasar la diferenciación de las células progenitoras en la segunda transición, sobre todo por un bloqueo de las señales que conducen a la diferenciación neuroendocrina, como neurogenina 3. Además inhiben la diferenciación de las células del páncreas exocrino⁵⁰. Cuando se inhiben las señales de Notch en ratones *knockout* para Dll1 (*delta-like gene 1*), un ligando de membrana de Notch, exhiben hipoplasia pancreática debido a prematura diferenciación de células neuroendocrinas progenitoras a células α . Estos ratones muestran un páncreas con una expresión aumentada de neurogenina 3 que adopta sobre todo diferenciación exocrina^{49,51}. En animales con sobreexpresión de señales de Nocht existe una disminución de la diferenciación neuroendocrina⁵².

Otros factores como TGF- β promueven la diferenciación neuroendocrina a expensas de la exocrina. Los páncreas embrionarios de ratón tratados in vitro con TGF- β incrementan el número de islotes pancreáticos y presentan pocos acinos⁵³.

En definitiva, el desarrollo de las células neuroendocrinas del páncreas es un complejo y delicado proceso que depende sobre todo de una perfecta regulación entre neurogenina 3 y señales de Notch.

En el campo de los tumores neuroendocrinos se está prestando especial atención a las vías de Notch. Estas señales están ausentes en el cáncer de próstata, tumores de células pequeñas de pulmón, tumores carcinoides y carcinoma medular de tiroides. La reactivación de dichas señales podría constituir una nueva diana terapéutica.

En cultivos celulares de tumores neuroendocrinos (BON-cells) se observa disminución de las señales de Notch. Kunnimalaiyann et al⁵⁴ realizan un estudio en el que mediante un vector construyen una nueva línea celular (mediante una quimera con el receptor de estrógenos: BON-NIER cells)⁵⁴. En estos cultivos celulares están de nuevo activadas las vías de Nocht y se objetiva una disminución de la secreción de ácido 5-hidroxiindolacético y de la proliferación celular cuando se compara con líneas celulares BON. En otro estudio se ana-

lizan líneas celulares BON y 14 tumores carcinoides y se encuentra también disminución de expresión de las señales de Noth. La reactivación de las mismas mediante vectores con adenovirus produce una disminución de la expresión de marcadores neuroendocrinos (NSE, cromogranina A y sinaptofisina) y un descenso del 89% de los valores de serotonina en plasma⁵⁵.

Neogénesis posnatal

En ratas y en hámsters tras ligadura de conducto pancreático, pancreatomectomía, destrucción por fármacos (etionamida) o inducción de inflamación (interferón) se forman nuevas células β que provienen de células madre de los conductos pancreáticos^{56,57}.

Esto no ocurre en modelos animales de diabetes inducida por alloxano o estreptozocina ya que posiblemente estos fármacos destruyan también las células madre de los ductos.

El páncreas en los seres humanos tiene poca capacidad regenerativa. Tras una pancreatomectomía parcial puede haber cierta neogénesis de células β , pero insuficiente para la independencia de la insulina del paciente. Existe actualmente un intenso debate sobre si las nuevas células β proceden de la autoduplicación de células maduras preexistentes o bien de un proceso de neogénesis a partir de células neuroendocrinas progenitoras situadas en los conductos pancreáticos^{58,59}. En modelos animales y seres humanos se puede dirigir el proceso de diferenciación de células β adultas a partir de células madre embrionarias^{60,61}. Sin embargo, cuando se intenta trasplantar estas células a ratones diabéticos no se consigue restaurar la glucemia. Se ha comprobado que el GLP-1 estimula la neogénesis de las células β en islotes de ratas⁶². En seres humanos, las células madre aisladas de los islotes pancreáticos son capaces

de diferenciarse a células del páncreas endocrino, células del páncreas exocrino y células hepáticas⁶³.

La formación de nuevas células β en el páncreas posnatal constituiría una verdadera tercera transición y posiblemente se origine por los 2 mecanismos: autoduplicación y neogénesis.

Desarrollo del sistema neuroendocrino del tracto gastrointestinal

A pesar de que las células neuroendocrinas del tracto gastrointestinal representan sólo el 1% de todos los tipos celulares, en su conjunto constituyen el principal órgano endocrino del organismo.

En el intestino delgado hay 4 tipos celulares: los enterocitos que se encargan fundamentalmente de la absorción de agua y nutrientes; las células de Paneth que sintetizan y secretan proteínas; las células caliciformes secretoras de moco, y las células neuroendocrinas (fig. 2). Las células enterocromafines son las células neuroendocrinas más abundantes del organismo. Secretan sobre todo serotonina, sustancia P, melatonina y guanilina. Funcionan como sensores que regulan la secreción intestinal y la contracción del músculo liso.

La mucosa intestinal de los mamíferos muestra una alta capacidad de autorregeneración con renovación de la mucosa cada 3-5 días. La proliferación, diferenciación y apoptosis ocurre de un modo ordenado en el eje cripta-villi⁶⁴. Estudios con marcación isotópica con timidina tritiada revelan que las células madre de las criptas migran y se diferencian hacia los villi⁶⁵. Existen numerosos estudios que demuestran la existencia de células madre en las criptas intestinales con capacidad para diferenciarse en los 4 tipos celulares del intestino delgado⁶⁶. Estudios en ratones transgénicos muestran el origen monoclonal de las células situadas en las

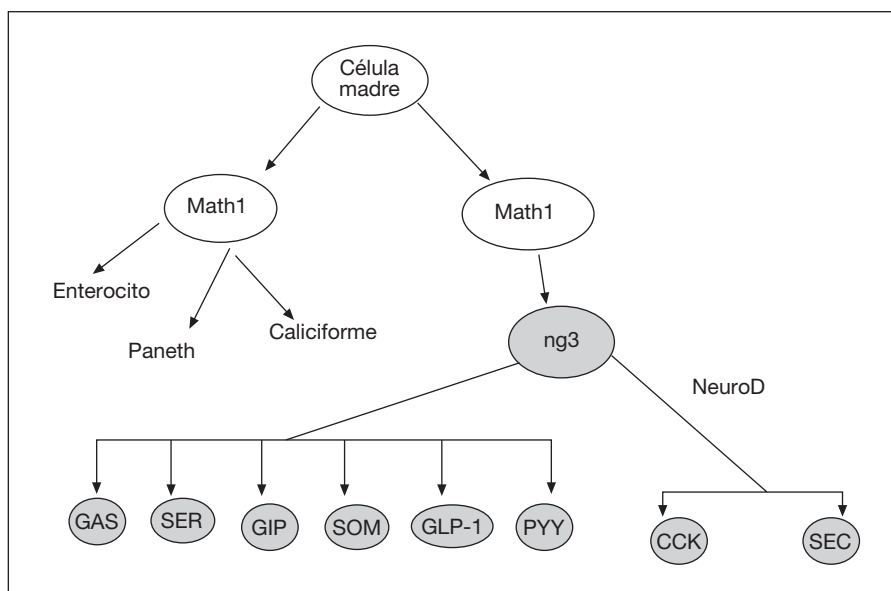


Fig. 2. Diferenciación de las células del intestino delgado a partir de las células madre. GAS: gastrina; SER: serotonina; GIP: polipéptido inhibidor gástrico; SOM: somatostatina; GLP-1: péptido similar al glucagón 1; PYY: péptido YY; CCK: colecistocinina; SEC: secretina.

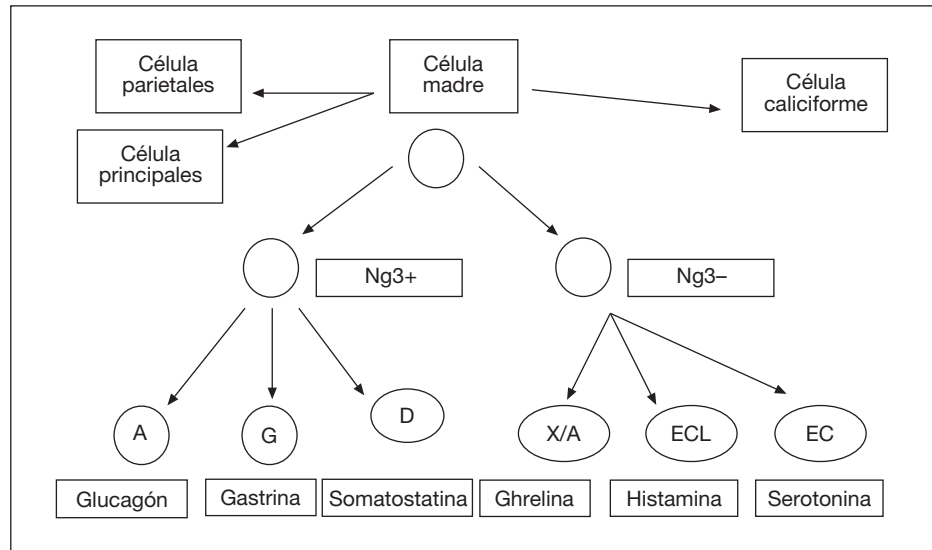


Fig. 3. Diferenciación de las células del estómago a partir de células madre.

criptas⁶⁷. En 1996, Novelli muestra el origen clonal de las células neuroendocrinas colónicas en seres humanos en un paciente con poliposis colónica familiar, en el que el 20% de las células del colon presentaron fenotipo X0/XY⁶⁸. Un estudio en mujeres heterocigotas para la mutación del gen *G6PD* demuestra que todos los tipos celulares de las criptas del intestino delgado derivan de células madre locales⁶⁹. Estudios de mutaciones mitocondriales (ADNmt) que resultan en deficiencia de citocromo C-oxidasa muestran que células madre mutadas pueden expandirse de forma clonal en toda la cripta¹⁹.

La diferenciación de la célula madre intestinal y neuronal presenta características comunes. Ambos procesos están regulados por genes que codifican para factores de transcripción bHLH bajo el control de las vías de señalización de Nocht. Los factores de diferenciación endocrina (Math 1, neurogenina 3 y Beta2/NeuroD) actúan en cascada de forma secuencial hasta la diferenciación final de las diversas estirpes celulares. El Math1 es un factor regulador en la diferenciación neuronal. Se expresa en las criptas y los villi inmaduros del intestino delgado, pero no en el estómago. Ratones *knockout* para Math1 carecen de enterocitos, células caliciformes y células de Paneth, y no presentan alteraciones en la diferenciación neuroendocrina intestinal, por lo que se considera un factor de regulación de la células madre hacia la estirpe secretora⁷⁰. La neurogenina 3, al igual que en el desarrollo del páncreas embrionario, es el principal factor que regula la diferenciación neuroendocrina del intestino delgado. Se expresa en el intestino del embrión en E12.5- E15.5 en duodeno y colon y se mantiene en las criptas del epitelio intestinal en el adulto⁷¹. En cortes histológicos de intestino delgado de embriones de ratón mutados para neurogenina 3 se observa inmunohistoquímica negativa para cromogranina A, gastrina y serotonina, cuando

se comparan con ratones no mutados⁴⁰. Cabe recordar que los pacientes descritos con síndrome de diarrea acuosa en los que se demostraron mutaciones en el gen de neurogenina 3 carecían de marcadores de expresión neuroendocrina en el intestino⁴³.

Beta2/NeuroD está regulado por neurogenina 3 y está implicado en la diferenciación neuroendocrina específica de las células secretoras de colecistocinina y secretina⁷².

En el estómago existen 4 tipos celulares: células parietales, células principales, células productoras de moco y las distintas células neuroendocrinas (productoras de ghrelin, gastrina, serotonina, histamina, glucagón y somatostatina) (fig. 3). Los ratones mutados para neurogenina 3 no desarrollan células productoras de glucagón, somatostatina ni de gastrina y sin embargo sí presentan células entrocromafines y entrocromafin-like (productoras de serotonina e histamina), lo que sugiere que la neurogenina 3 es fundamental para todos los tipos celulares, a diferencia de lo que ocurre en el intestino delgado⁷³.

BIBLIOGRAFÍA

1. Oberndorfer S. Karzinoide tumoren des dünndars. Frank Z Pathol. 1907;1:426-32.
2. Klöppel G. Tumor biology and histopathology of neuroendocrine tumours. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2007;21:15-31.
3. Bech P, Winstanley V, Murphy K, Sam A, Meeran K, Ghatei M, Bloom S. Elevated cocaine- and amphetamine-regulated transcript immunoreactivity in the circulation of patients with neuroendocrine malignan. J Clin Endocrinol Metab. 2008;23:1246-53.
4. Heidenhain R. Untersuchungen über den Bau der LAbdrüsen. Arch f milr Ant. 1870;6:368.
5. Langerhans Püber die heutigen Bewohner des heiligen Landes. Braunschweig. Archiv für Anthropologie. 1873;6:39-58, 201-12.

6. Ciaccio M. Sur une nouvelle espèce cellulaire dans les glandes de Lieberkühn. C R Senaces Soc Biol Fil (Paris). 1906;60:70-7.
7. Gosset A, Masson P. Tumeurs endocrines de l'appendice. Presse Med. 1914;25:237-40.
8. Feyrter F. Über diffuse endokrine epitheliale Organe. Zentralb Innere Med. 1938;545:32-41.
9. Pearse A. The diffuse endocrine system and the implications of the APUD concept. Int Surg. 1976;64:5-7.
10. Pearse A. The calcitonin secreting C cells and their relationship to the APUD cell series. J Endocrinol. 1969;45(Suppl):13-4.
11. Kim S, Rulifson E. Conserved mechanisms of glucose sensing and regulation by *Drosophila corpora cardiaca* cells. Nature. 2004;431:316-20.
12. Lee JE, Hollenberg SM, Snider L, Turner DL, Lipnick N, Weintraub H. Conversion of *Xenopus* ectoderm into neurons by NeuroD, a basic helix-loop-helix protein. Science. 1995;268:836-44.
13. Andrew A, Kramer B, Rawdon BB. The origin of gut and pancreatic neuroendocrine (APUD) cells —the last word? J Pathol. 1976;186:117-8.
14. Fontaine J, Le Lievre C, Le Douarin NM. What is the developmental fate of the neural crest cells which migrate into the pancreas in the avian embryo? Gen Comp Endocrinol. 1977;33:394-404.
15. Le Douarin NM, Teillet MA. The migration of neural crest cells to the wall of the digestive tract in avian embryo. J Embryol Exp Morphol. 1973;30:31-48.
16. Le Douarin NM. On the origin of pancreatic endocrine cells. Cell. 1988;53:169-71.
17. Field H, Dong P, Beis D, Stainer R. Formation of the digestive system in zebrafish. Development. 2003;281:197-208.
18. Jørgensen MC, Ahnfelt-Rønne J, Hald J, Madsen O, Serup P, Hecksher-Sørensen J. An illustrated review of early pancreas development in the mouse. Endocrine Rev. 2007;28:685-705.
19. McDonald S, Preslon SL, Greaves L, Leedahl S, Lovell M, Jankowski J, et al. Clonal expansion in the human gut: mitochondrial DNA mutations show us the way. Cell Cycle. 2006;(8):808-11.
20. Rutter WJ, Kemp JD, Bradshaw WS, Clark WR, Ronzio RA, Sanders TG. Regulation of specific protein synthesis in cytodifferentiation. J Cell Physiol. 1968;72(Suppl 1):1-18.
21. Pictet RL, Clark WR, Williams RH, Rutter WJ. An ultrastructural analysis of the developing embryonic pancreas. Dev Biol. 1972;29:436-67.
22. Kubo A, Shinozaki K, Shannon JM, Kouskoff V, Kennedy M, Woo S, et al. Development of definitive endoderm from embryonic stem cells in culture. Development. 2004;131:1651-62.
23. D'Amour KA, Agulnick AD, Eliazar S, Kelly OG, Kroon E, Baetge EE. Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm. Nat Biotechnol. 2005;23:1534-41.
24. D'Amour KA, Bang AG, Eliazar S, Kelly OG, Agulnick AD, Smart NG, et al. Production of pancreatic hormone-expressing endocrine cells from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol. 2006;24:1392-401.
25. Gittes GK, Galante PE, Hanahan D, Rutter WJ, Debase HT. Lineage-specific morphogenesis in the developing pancreas: role of mesenchymal factors. Development. 1996;122:439-47.
26. Prado CL, Pugh-Bernard AE, Elghazi L, Sosa-Pineda B, Sussel L. Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101:2924-9.
27. Murtaugh LC. Pancreas and beta-cell development: from the actual to the possible. Development. 2007;134:427-38.
28. Wells JM, Melton DA. Early mouse endoderm is patterned by soluble factors from adjacent germ layers. Development. 2000;127:1563-72.
29. Dor Y, Brown J, Martinez Oand Melton D. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. Nature. 2006;429:41-6.
30. Hao E, Tyrberg B, Itkin-Ansari P, Lakey J, Geron I, Monosov E, et al. Beta-cell differentiation from nonendocrine epithelial cells of the adult human pancreas. Nat Med. 2006;12:310-6.
31. Ohlsson H, Karlsson K, Edlund T. IPF1, a homeodomain-containing transactivator of the insulin gene. EMBO J. 1993;12:4251-4259.
32. Jonsson J, Carlsson L, Edlund T, Edlund H. Insulin-promoter-factor 1 is required for pancreas development in mice. Nature. 1994;371:606-9.
33. Offield MF, Jetton TL, Labosky PA, Ray M, Stein RW, Magnusson MA, et al. PDX-1 is required for pancreatic outgrowth and differentiation of the rostral duodenum. Development. 1996;122:983-95.
34. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. Nat Genet. 1997;17:138-9.
35. Li H, Arber S, Jessell TM, Edlund H. Selective agenesis of the dorsal pancreas in mice lacking homeobox gene Hlxb9. Nat Genet. 1999;23:67-70.
36. Seymour P, Freude K, Tran K, Mayes E, Jensen J, Kist R, et al. From the Cover: SOX9 is required for maintenance of the pancreatic progenitor cell pool. PNAS. 2007;104:1865-70.
37. Sommer L, Ma Q, Anderson DJ. Neurogenins, a novel family of atonal-related bHLH transcription factors, are putative mammalian neuronal determination genes that reveal progenitor cell heterogeneity in the developing CNS and PNS. Mol Cell Neurosci. 1996;8:221-41.
38. Lee J, Wu Y, Qi Y, Xue H, Liu Y, Scheel D, et al. Neurogenin 3 participates in gliogenesis in the developing vertebral spinal cord. Dev Biol. 2003;253:84-98.
39. Schwitzgebel VM, Scheel DW, Connors JR, Kalamaras J, Lee JE, Anderson DJ, et al. Expression of neurogenin3 reveals an islet cell precursor population in the pancreas. Development. 2000;127:3533-42.
40. Gradwohl G, Dierich A, LeMeur M, Guillemot F. Neurogenin3 is required for the development of the four endocrine cell lineages of the pancreas. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97:1607-11.
41. Del Bosque-Plata L, Lin J, Horikawa J, Schwarz P, Cox N, Iwasaki N, et al. Mutations in the coding region of the neurogenin 3 gene (NEUROG3) are not a common cause of maturity-onset diabetes of the young in Japanese subjects. Diabetes. 2006;50:694-6.
42. Malecki M, Jhala M, Antonellis U, Fields L, Doria A, Orban T, et al. Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. Nature Genetics. 1999;23:323-8.
43. Wang J, Cortina G, Wu SV, Tran R, Cho JH, Tsay MH, et al. Mutant neurogenin-3 in congenital malabsorptive diarrhea. NEJM. 2006;355:270-80.
44. Murtaugh LC. Pancreas and beta-cell development: from the actual to the possible. Development. 2007;134:427-38.
45. Sussel L, Kalamaras J, Hartigan-O'Connor D, Meneses J, Pedersen R, et al. Mice lacking the homeodomain transcription factor Nkx2.2 have diabetes due to arrested differentiation of pancreatic beta cells. Development. 1998;125:2213-21.
46. Sander M, Neubuser A, Kalamaras J, Martin GR, German MS. Genetic analysis reveals that PAX6 is required for normal transcription of pancreatic hormone genes and islet development. Genes Dev. 1997;11:1662-73.
47. St-Onge L, Sosa-Pineda B, Chowdhury K, Mansouri A, Gruss P. Pax6 is required for differentiation of glucagon-producing cells in mouse pancreas. Nature. 1997;387:406-9.
48. Hussain MA, Lee J, Miller CP, Habener JF. POU domain transcription factor brain 4 confers pancreatic α -cell-specific expression.

- ssion of the proglucagon gene through interaction with a novel proximal promoter G1 element. *Mol Cell Biol*. 1997;17:7186-94.
49. Apelqvist A, Hao Li, Sommer L, Beatus P, Anderson D, Honjot T, et al. Notch signalling controls pancreatic cell differentiation. *Nature*. 1999;400:877-80.
50. Lai EC. Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development*. 2004;131:965-73.
51. Jensen J, Pedersen E, Galante P, Hald J, Heller RS, Ishibashi M, et al. Control of endodermal endocrine development by Hes-1. *Nat. Genet*. 2000;24:36-44.
52. Esni F, Johansson B, Radice G, Semb H. Dorsal pancreas agenesis in N-cadherin-deficient mice. *Dev Biol*. 2002;238:202-12.
53. Sanvito F, Herrera P, Huarte J, Nichols A, Montesano R, Orci L, et al. TGF-beta 1 influences the relative development of the exocrine and endocrine pancreas in vitro. *Development*. 1994;120:3451-62.
54. Kunnimalaiyaan M, Traeger K, Chen H. Conservation of the Notch1 signaling pathway in gastrointestinal carcinoid cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005;289:G636-G642.
55. Nakakura E, Sriuranpong V, Kunnimalaiyaan M, Hsiao E, Schuebel K, Borges M, et al. Regulation of neuroendocrine differentiation in gastrointestinal carcinoid tumor cells by notch signaling. *J Clin Endocrinol and Metab*. 2005;90: 4350-6.
56. Wang RN, Kloppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*. 1995;38:1405-11.
57. Starich GH, Zafirova M, Jablenska R, Petkov P, Lardinois CK. A morphological and immunohistochemical investigation of endocrine pancreata from obese ob+/ob+ mice. *Acta Histochemica*. 1991;90:93-101.
58. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*. 2004;429:41-6.
59. Zhao M, Amiel S, Christie M, Muisan P, Srivivasan P, Littlejohn W, et al. Evidence for the presence of stem cell-like progenitor cells in human adult pancreas. *J Endocrinol*. 2007;195:407-14.
60. Soria B, Roche E, Berna G, Leon-Quinto T, Reig JA, Martin F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes*. 2000;49:157-62.
61. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecky K, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes*. 2001;50:1691-7.
62. Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, Khoury N, Noshmeh H, et al. Glucagon-Like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology*. 2003;144:5149-58.
63. Eberhardt M, Salmon P, von Mach MA, Hengstler JG, Brulport M, Zulewski H. Multipotential nestin and Isl-1 positive mesenchymal stem cells isolated from human pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;345:1167-76.
64. Schonhoff SE, Giel-Moloney M, Leiter AB. Minireview: development and differentiation of gut endocrine cells. *Endocrinology*. 2004;145:2639-44.
65. Cheng H, Leblond CP. Origin, differentiation, and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. V. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. *Am J Anat*. 1974;141:537-62.
66. Wrigth N. The origin of the gut neuroendocrine cells. En: Modlin I, Öberg K, editores. A century of advances in neuroendocrine tumor biology and treatment. Felsenstein: CAPP; 2008. p. 192-9.
67. Roth KA, Hertz JM, Gordon JJ. Mapping enteroendocrine cell populations in transgenic mice reveals an unexpected degree of complexity in cellular differentiation within the gastrointestinal tract. *J Cell Biol* 1990;110:1791-801.
68. Novelli MR, Williamsin JA, Tomlinson IP. Polyclonal origin of colonic adenomas in a X0/XY patient with FAP. *Science*. 1996;272:1187-90.
69. Novelli MR, Cossu A, Oukrif D. X-inactivation patch size in human fetal confounds the assessment of the tumor clonality. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:3311-4.
70. Yang Q, Bermingham NA, Finegold MJ, Zoghbi HY. Requirement of Math1 for secretory cell lineage commitment in the mouse intestine. *Science*. 2001;294:2155-8.
71. Lee CS, Perreault N, Brestelli JE, Kaestner KH. Neurogenin 3 is essential for the proper specification of gastric enteroendocrine cells and the maintenance of gastric epithelial cell identity. *Genes Dev*. 2002;16:1488-97.
72. Mutoh H, Fung B, Naya F, Tsai M-J, Nishitani J, Leiter AB. The basic helix-loop-helix transcription factor BETA2/NeuroD is expressed in mammalian enteroendocrine cells and activates secretin gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:3560-4.
73. Jenny M, Uhl C, Roche C, Duluc I, Guillemin V, Guillemet F, et al. Neurogenin 3 is differentially required for endocrine cell fate specification in the intestinal and gastric epithelium. *EMBO J*. 2002;21:6338-47.