



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

ANÁLISIS SITUACIONAL DEL DIAGNÓSTICO DE PATOLOGÍA
QUIRÚRGICA CON APOYO DE INMUNOHISTOQUÍMICA EN
EL SERVICIO DE PATOLOGÍA DEL HOSPITAL REGIONAL
LIC. ADOLFO LÓPEZ MATEOS, ISSSTE.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD MÉDICA EN:
ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:
DRA. ANA LILIA CEDEÑO GARCIDUEÑAS

ASESOR DE TESIS:
DR. FERNANDO E. DE LA TORRE RENDÓN

No. DE REGISTRO DE PROTOCOLO:
498 2009



2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi máximo agradecimiento a mis padres y hermanos que siempre me han brindado su apoyo incondicional en todo momento para poder salir adelante.

A mi hija Andrea Michelle por motivarme a ser cada día mejor ser humano.

A mis maestros del HRLALM quienes me dieron la oportunidad y confianza para continuar mi formación y de los cuales aprendí cosas muy valiosas para mi desarrollo profesional.

A Fernando, Hugo, Nahielly, Edna, Carlos y demás amigos y compañeros que de algún modo me brindaron su apoyo y me dieron palabras de aliento; que estuvieron conmigo en situaciones difíciles, pero, sobre todo por compartir momentos inolvidables.

ÍNDICE

Antecedentes.....	1
Justificación.....	4
Objetivos.....	5
Material y métodos.....	6
Resultados.....	7
Discusión.....	31
Bibliografía.....	32

RESUMEN

OBJETIVO: Conocer cuál ha sido la aplicación de la inmunohistoquímica para apoyo diagnóstico; pronóstico o para la administración de terapias blanco.

Determinar cuales son los marcadores de inmunohistoquímica que más se han utilizado en el servicio de Patología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos" así como establecer la distribución de los problemas más frecuentes para emitir diagnósticos definitivos.

MATERIAL Y MÉTODOS: El estudio se llevó a cabo mediante la recolección de datos de los archivos de inmunohistoquímica a partir del 1° de marzo del 2006 hasta el 31 de diciembre del 2008.

Se revisaron también los archivos de Patología quirúrgica para conocer su diagnóstico histológico correspondiente.

Los datos fueron procesados con el programa Excel, utilizando estadística descriptiva.

RESULTADOS: En este periodo se realizaron en total 28 370 estudios de patología quirúrgica, de los cuales se programaron para inmunohistoquímica 923 estudios (3.2%) y de estos se les realizó a 901 (3.1%). No se realizaron 22 estudios para inmunohistoquímica debido a que no se encontraban disponibles los bloques de parafina, presentaban material escaso o estaba agotado.

Se realizaron 555 estudios (61.6%) con fines de pronóstico y tratamiento y 346 (38.4%) con fines de definición y/o corroboración del diagnóstico.

CONCLUSIONES: La mayoría de los estudios fueron realizados para conocer los factores pronósticos y de tratamiento en las pacientes con cáncer de mama (391 estudios, 43.4%), los cuales se hacen de forma rutinaria. Entre los estudios realizados también con este fin encontramos la inmunotipificación de los linfomas (133 estudios, 17%) y la identificación de lesiones compatibles con VPH de alto riesgo (31 estudios, 3.4%). Para definición diagnóstica se realizaron estudios con marcadores para carcinoma de próstata 111 (12%), para tumores de tejidos blandos 65 (7.2%) y para carcinoma neuroendócrino 26 (2.8%), entre otros que fueron menos frecuentes.

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim was to reveal the utility of immunohistochemistry as an adjuvant for pathological diagnosis, prognosis and definition of target therapies in our laboratory. We need to know which markers are the most commonly used and the distribution of the most frequent problems in our routine practice that are solved with this technique.

MATERIAL AND METHODS: The information was obtained from the files of the Immunohistochemistry registry archives and the Surgical Pathology reports. The selected period was March 1st. 2006 to December 31, 2008. The data were processed and collected with Excel program, descriptive information was presented.

RESULTS: A total of 28,370 surgical pathology were surveyed for this period, 923 of them were required for immunohistochemistry (3.2 %). This was performed in only 901 (3.1 %) as in 22 cases paraffin blocks were not available or the tissue was in ill condition.

555 studies were realized (61.6 %) with markers of prognostic importance or for target therapies, 346 (38.4 %) required markers for definition of differentiation and/or diagnostic confirmation.

CONCLUSIONS: Most of the studies were realized with prognostic or therapeutic purposes, mainly for breast carcinoma (391, 43.4 %) which are routinely performed in our Hospital since 2006. Also immunotipification of lymphomas (133 cases, 17 %) was routinely used and HPV related lesions of lower anogenital tract. With diagnostic purposes we performed 111 studies (12 %) for suspicious cases of prostatic carcinoma, 65 for soft tissue neoplasms (7.2 %) and 26 for suspicious cases of neuroendocrine carcinoma. Rest of the studies were done in several others organs and problems.

ANTECEDENTES

La inmunohistoquímica es una técnica que ha revolucionado la histopatología. El desarrollo de la metodología de anticuerpos marcados con fluorosceína (inmunofluorescencia indirecta) realizada por Albert H Coons, Hugh Creech, Norman Jones y Ernst Berlinier, en la universidad de Harvard en 1941, fué el antecedente del florecimiento de la inmunopatología (1, 2, 3).

El desarrollo de la inmunohistoquímica ha proporcionado una base para la caracterización molecular de los tumores utilizando anticuerpos que localizan moléculas expresadas por la células tumorales (2, 3,4). Este método de la detección de antígenos en secciones de tejido con anticuerpos ha sido un gran avance en la patología quirúrgica (2, 3, 5, 6).

Hay numerosas posibles aplicaciones para resolver problemas diagnósticos, ayuda en la clasificación de tumores, determina tipo de origen de un carcinoma, localiza micrometástasis, proporciona información pronóstica y muestra microorganismos (6).

A continuación se mencionan algunos de sus usos más comunes.

- La expresión de antígenos relacionados con el linaje es el principio fundamental de la inmunofenotipificación de la neoplasias hematopoyéticas. La histodiferenciación de las neoplasias hematopoyéticas siguen un camino más o menos paralelo a sus contrapartes normales (7). Actualmente es fundamental saber la estirpe de un linfoma, ya que existen terapias específicas para ciertos tipos de estos.
- Factores predictivos que guían una terapia específica en el cáncer de mama, tales como receptores hormonales (estrógenos y progesterona) y Her 2 neu, son utilizados de manera rutinaria (5, 8, 9).
- En neoplasias pleuro-pulmonares proporciona información valiosa en el diagnóstico y clasificación de neoplasias tales como la de células pequeñas y células no pequeñas, lo cual tiene una implicación terapéutica. Proporciona evidencia para soportar la interpretación de una neoplasia con diferenciación neuroendócrina. Ayuda en el diagnóstico diferencial entre carcinomas primarios de pulmón, mesoteliomas y carcinomas metastásicos extrapulmonares (10).
- La dificultad de las biopsias de próstata con aguja radica no solo de la pequeña cantidad de tejido disponible para la examinación histológica, sino también del hecho que en las biopsias a menudo se identifican, muy pocas glándulas malignas (pequeños focos de

carcinoma, carcinomas diminutos) o varios hallazgos histológicos benignos que simulan cáncer, por lo que se recurre a esta herramienta (11).

- Una de las dificultades más frecuentes en la patología tiroidea es la diferenciación de la variante folicular del carcinoma papilar del adenoma folicular. La diferenciación es crítica para el tratamiento y el manejo a largo plazo de estos tumores (12).
- Ha habido un creciente interés en el uso de anticuerpos específicos en la detección de antígenos virales, fúngicos y parasitarios en la detección e identificación de agentes causales en muchas enfermedades infecciosas. La inmunohistoquímica es especialmente utilizada cuando los microorganismos son difíciles de identificar por tinciones especiales de rutina, son quisquillosos para su cultivo o exhiben una morfología atípica (13).
- La evaluación de VPH de alto riesgo, así como la inmunoreactividad de P16, debería ser una herramienta útil de valor clínico particular en la identificación de casos con alta tendencia de progresar a lesiones de alto grado.(14).
- La identificación de material extracelular tal como la Beta 2-microglobulin amiloide (5).
- La importancia de los estudio de inmunohistoquímica en los tumores de partes blandas radica en la necesidad que tiene el patólogo de precisar el diagnóstico histopatológico de lesiones benignas y malignas pseudo sarcomatosas o sarcomatosas y poder diferenciarlas de neoplasias de otro origen (15).
- La expresión de C kit, receptor de tirosincinasa (stem cell factor receptor, CD117) es comúnmente mostrado en los análisis de inmunohistoquímica para GIST, las tinciones para CD34, Actina de músculo liso, desmina y PS100, han sido recomendadas para ayudar en el diagnóstico de estos tumores (16).
- Para la investigación en pacientes con neoplasia primaria oculta es generalmente aceptado, tanto el uso y costo beneficio de la evaluación de la inmunohistoquímica en el material de biopsia, comparado con investigaciones exhaustivas utilizando otras modalidades predominantemente radiología y endoscopia (17).

La interpretación de la inmunotinción debe estar basada en la distribución microanatómica de la tinción, proporción de las células teñidas positivamente, intensidad de la tinción y si es relevante los niveles de corte (18).

No hay reglas absolutas para la inmunoreactividad en células y tejidos. La inmunorreactividad positiva aberrante (o ausencia de inmunorreactividad) es ocasionalmente observada para todos los anticuerpos, de cualquiera se puede esperar una variabilidad biológica (ej. melanomas positivos a la queratina ocasionales) o factores técnicos (anticuerpos impuros, reacción cruzada con otros antígenos, falla de la preservación antigénica). Por lo tanto, los marcadores de inmunohistoquímica son utilizados más efectivamente en paneles, con interpretación basada en un perfil inmunohistoquímico (5).

La construcción de un panel diagnóstico apropiado está determinado por las preguntas realizadas. Estas son las más frecuentes:

- ¿Cuál es el diagnóstico más probable, dada la morfología de la lesión y el cuadro clínico?
- ¿Cuáles son los diagnósticos diferenciales?
- ¿Cual es la característica morfológica específica?
- ¿Qué anticuerpos podrían reaccionar en forma positiva y cuáles serian negativos en la lesión que estamos pensando?
- ¿Que factores pronóstico y/o marcadores terapéuticos se expresan en el tumor?
- ¿Hay mutaciones de genes específicos que indican susceptibilidad familiar?

Esta claro que el diagnóstico final de la inmunohistoquímica está relacionada con las preguntas surgidas de la examinación morfológica y que las inmunoreacciones no pueden ser interpretadas aisladamente, en la gran mayoría de las situaciones no son de mucha utilidad; es decir, solo obtendremos respuestas adecuadas si hacemos las preguntas correctas. (1,19).

Aunque es aparente a los patólogos quirúrgicos que la inmunohistoquímica puede contribuir significativamente a la calidad del diagnóstico en algunos casos, es sorprendentemente el analisis no formal del costo-beneficio de su impacto en el tratamiento del paciente y el resultado (6).

La comunicación entre el patólogo y el clínico es extremadamente importante para seleccionar la bateria apropiada de anticuerpos, que no debe ser reemplazada por el uso de la bateria universal de marcadores. Un test de inmunohistoquímica no es 100% específico. Es importante el uso de los marcadores de inmunohistoquímica para guiar en conjunción con la presentación del paciente y los estudios de imagen a seleccionar la mejor terapia. (20)

Es importante enfatizar que la inmunohistoquímica tiene diferentes pasos y que todos ellos pueden afectar el resultado final; sin embargo, en general las únicas limitaciones son la

disponibilidad de anticuerpos específicos y la preservación de los epítomos (13).

JUSTIFICACION

La inmunohistoquímica es una técnica que ha revolucionado la histopatología, proporcionando una base para la caracterización molecular de los tumores utilizando anticuerpos que localizan moléculas expresadas por las células tumorales. Ha sido un gran avance en la patología quirúrgica: ayuda en la clasificación de tumores, determina tipo de origen de un carcinoma, localiza micrometástasis y proporciona información pronóstica.

Desde que se inició el estudio de la inmunohistoquímica en nuestro Hospital no se ha hecho un estudio para cuantificar cuáles han sido los beneficios de esta herramienta diagnóstica y cuales son los marcadores más útiles. El determinar la contribución en la resolución de problemas diagnósticos, especialmente de diferenciación y clasificación de las neoplasias y la diferenciación de los tumores benignos de los malignos; así como el conocer la utilidad para apoyo diagnóstico; pronóstico o para la administración de terapias blanco es sumamente importante, ya que ayudará a tomar decisiones que favorecerán al derechohabiente, además, permitirá definir un perfil de reactivos de acuerdo a las necesidades de nuestros pacientes, con planeación adecuada, lo cual repercutirá en la disminución de gastos, al no solicitar material innecesario.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer cuál ha sido la aplicación de la inmunohistoquímica para apoyo diagnóstico; pronóstico o para la administración de terapias blanco.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar cuales son los marcadores de inmunohistoquímica que más se han utilizado en el servicio de Patología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos."
2. Establecer la distribución de los problemas más frecuentes para emitir diagnósticos definitivos.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo a partir de la recolección de datos de los archivos de inmunohistoquímica desde el año en que inició, que fue a partir del 1º de marzo del 2006 hasta el 31 de diciembre del 2008.

Se revisaron también los archivos de Patología quirúrgica para conocer su diagnóstico histológico correspondiente.

Se tomaron en cuenta todos los estudios programados realizados o no realizados y la causa por las que no se hizo.

Se eliminaron los estudios en los cuales no se encontró el reporte histológico, de inmunohistoquímica y tampoco aquellos que se encontraban repetidos.

Se clasificaron en grupos de acuerdo al panel de anticuerpos utilizados, al sitio anatómico o a tumores y/o marcadores específicos, una vez incluido el estudio en un grupo, no se repite en otro.

Se tomaron como estudios útiles aquellos en los cuales se logró corroborar o descartar el diagnóstico
Histológico previo.

Los estudios no concluyentes fueron en los que no se obtuvo un diagnóstico definitivo, debido a falta de anticuerpos más específicos, o a que las reacciones no fueron adecuadas, o no eran las que se esperaban en determinado tumor.

Los estudios no valorables fueron aquellos que debido a problemas técnicos tales como mala conservación antigénica, material escaso o inadecuado, etc., no se logró emitir un diagnóstico.

RESULTADOS

En el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional "Licenciado Adolfo López Mateos" se realizaron en total 28 370 estudios de patología quirúrgica durante el periodo comprendido del 1º de Marzo del 2006 al 31 de Diciembre del 2008, de los cuales se programaron para inmunohistoquímica a 923 estudios que corresponde al 3.2% y de estos se les realizó a 901 (3.1%). No se realizaron 22 estudios programados para inmunohistoquímica debido a que no se encontraban disponibles los bloques de parafina, presentaban material escaso o estaba agotado.

Tabla I. Porcentaje de los estudios de Inmunohistoquímica programados y realizados, del total de los estudios de Patología Quirúrgica realizados del 1º de Marzo del 2006 al 31 de Diciembre del 2008.

	TOTAL	%
ESTUDIOS DE PATOLOGÍA QUIRÚRGICA	28 370	100
PROGRAMADOS PARA INMUNOHISTOQUÍMICA	923	3.2
<u>TOTAL DE ESTUDIOS REALIZADOS CON</u> <u>INMUNOHISTOQUÍMICA</u>	901	<u>3.1</u>

Tabla II. Estudios de inmunohistoquímica programados y realizados.

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS	923	
REALIZADOS	<u>901</u>	98
NO REALIZADOS	22	2

Tabla III. Distribución de los estudios de Inmunohistoquímica realizados de acuerdo al órgano estudiado.

ÓRGANO	NO. ESTUDIOS REALIZADOS	%
Glándula mamaria	398	44
Próstata	112	12.4
Ganglio linfático	97	11
Piel	45	5
Tejidos Blandos	34	4
Estómago	21	2.3
Cervix	20	2.2
Hígado	13	1.4
Cerebro	10	1.1
Glándula Salival	9	0.9
Ovario	9	0.9
Fosa nasal	8	0.8
Útero	7	0.7
Pene	7	0.7
Órbita	6	0.6
Pulmón	6	0.6
Conjuntiva	5	0.5
Vulva	5	0.5
Riñón	5	0.5
Colon	5	0.5
Año	4	0.4
Hueso	4	0.4
Tiroides	4	0.4
Retroperitoneo	4	0.4
Vagina	4	0.4
Apéndice cecal	4	0.4
Amígdala	3	0.3
Médula ósea	3	0.3
Párpado	3	0.3
Endometrio	3	0.3
Peritoneo	3	0.3
Vía biliar	3	0.3
Pleura	2	0.2
Intestino delgado	2	0.2
Médula espinal	2	0.2
Bazo	2	0.2
Duodeno	2	0.2
Mediastino	2	0.2
Senos paranasales	2	0.2
Testículo	2	0.2
Timo	2	0.2
Laringe	2	0.2
Mesenterio	2	0.2

Líquido pleural	2	0.2
Páncreas	2	0.2

ÓRGANO	NO. DE ESTUDIOS REALIZADOS	%
Vesícula biliar	1	0.1
Glándula lagrimal	1	0.1
Vejiga	1	0.1

Tabla III. Continuación.

Esófago	1	0.1
Labio	1	0.1
Lengua	1	0.1
Cerebelo	1	0.1
Faringe	1	0.1
Pericardio	1	0.1
Hipófisis	1	0.1
Placenta	1	0.1
	901	100

Tabla IV. Estudios de Inmunohistoquímica distribuidos de acuerdo al diagnóstico presuntivo, programados, realizados y su porcentaje de frecuencia.

	ESTUDIOS PROGRAMADOS	ESTUDIOS REALIZADOS	%
CANCER DE MAMA RE, RP Y HER 2 NEU	405	391	43.4
PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS	165	153	17
CANCER DE PRÓSTATA	111	111	12
TUMORES DE TEJIDOS BLANDOS	65	65	7.2
LESIONES RELACIONADAS CON VPH	38	33	3.6
CARCINOMA NEUROENDÓCRINO	26	26	2.8
CARCINOMA DE ORIGEN DESCONOCIDO	24	22	2.4
ADENOCARCINOMAS DE SITIOS ESPECÍFICOS	17	17	1.8
CARCINOMA EPIDERMOIDE	11	11	1.2
LESIONES PIGMENTADAS DE PIEL	9	9	0.9
TUMORES DE LA ESTROMA GASTROINTESTINAL	6	6	0.6
MESOTELIOMA VS ADENOCARCINOMA	4	4	0.4

RE: Receptores de estrógenos. **RP:** Receptores de Progesterona.
VPH: Virus del Papiloma Humano.

Tabla V. Estudios de Inmunohistoquímica distribuidos de acuerdo al órgano o sistema anatómico estudiado, programados, realizados y su porcentaje de frecuencia.

	ESTUDIOS PROGRAMADOS	ESTUDIOS REALIZADOS	%
MAMA	8	8	0.8
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	8	8	0.8
SISTEMA URINARIO	5	5	0.5
PIEL	4	4	0.4
TIROIDES	4	4	0.4
GLÁNDULA SALIVAL	3	3	0.3
HÍGADO	2	2	0.2
PÁNCREAS	2	2	0.2
TIMO	2	2	0.2
PLACENTA	1	1	0.1
TESTICULO	1	1	0.1

A continuación se describen los resultados de los estudios de inmunohistoquímica distribuidos por panel de anticuerpos utilizados, sitio anatómico o a tumores y/o marcadores específicos.

CANCER DE MAMA.

Estudios con diagnóstico de carcinoma se programan para realizar Receptores de estrógenos y progesterona, así como Her 2 neu, con fines de pronóstico y tratamiento.

- 405 estudios programados.
- 14 estudios no se realizaron debido a la falta de disponibilidad de los bloques de parafina o por material agotado.
- En total se realizaron 391 estudios.

Tabla 1. Total de Receptores de estrógenos, progesterona y Her 2 neu realizados.

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS	405	100
NO REALIZADOS	14	3.5
REALIZADOS	391	96.5

PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS

Se realizaron marcadores de linaje linfoide para la inmunotipificación de linfomas o para determinar la naturaleza de la proliferación linfocítica en diferentes tipos de tejido.

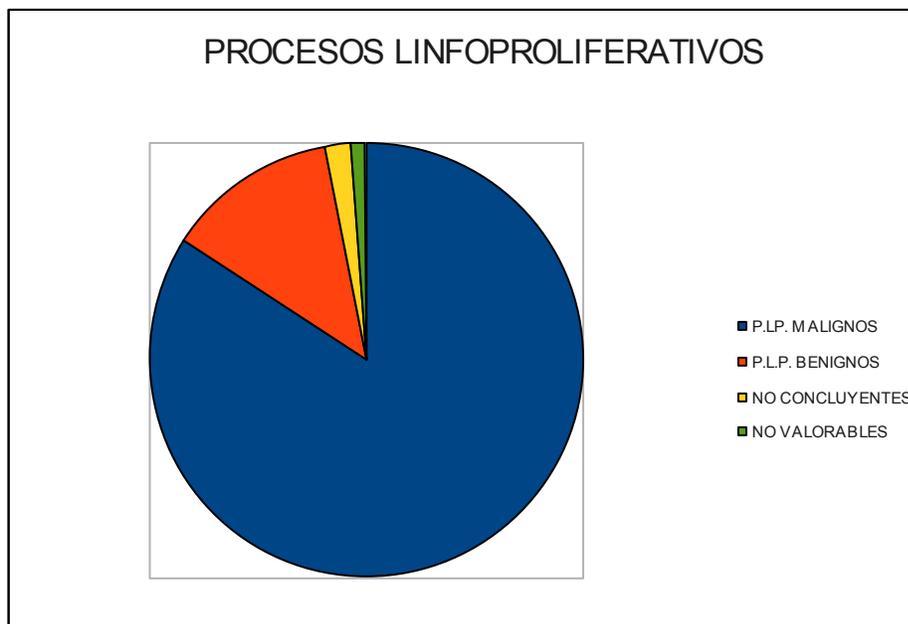
- 165 estudios programados.
- 2 estudios no se realizaron debido a la falta de bloques.
- Se encontraron **137 procesos linfoproliferativos malignos** (133 linfomas y 4 plasmocitomas).
- Se encontraron **21 procesos linfoproliferativos benignos**.
- 3 estudios no fueron concluyentes por falta de marcadores.
- 2 estudios no fueron valorables debido a defectos del tejido y por presentar escaso material valorable.
- En total se realizaron 163 estudios.

Tabla 2. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica en los procesos linfoproliferativos.

ESTUDIOS	TOTAL	%
REALIZADOS	163	
P.L.P. MALIGNOS	137	84
P.L.P. BENIGNOS	21	13
NO CONCLUYENTES	3	1.8
NO VALORABLES	2	1,2

P.L.P. : Procesos Linfoproliferativos.

Fig. 1. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica realizados en los procesos linfoproliferativos.



Fuente: Archivos Patología HRLALM.

Tabla 3. Frecuencia de los diferentes tipos de linfomas.

	TOTAL	%
TIPO B (CD20 +)	108	81.2
TIPO T (CD3 +)	11	8.3
TIPO NK (NO T , NO B)	2	1.5
LINFOMA DE HODGKIN	12	9

CÁNCER DE PRÓSTATA

En los estudios sospechosos de adenocarcinoma se realizó P63 y en algunos se utilizó también racemasa, el diagnóstico fue emitido hasta obtener la confirmación por IHQ de malignidad o benignidad.

- 111 estudios programados y realizados.
- Se obtuvieron 97 estudios útiles al confirmar o descartar adenocarcinoma.
- 14 estudios no fueron concluyentes debido a que no se encontró la zona sospechosa de lesión en los cortes para inmunohistoquímica, o el material era escaso.
- 46 estudios fueron compatibles con adenocarcinoma.
- 51 estudios fueron negativos para adenocarcinoma.

Tabla 4. Resultados de los estudios de próstata con P63.

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS Y REALIZADOS	111	
ESTUDIOS ÚTILES	97	87
NO CONCLUYENTES	14	13

Tabla 5. Estudios negativos y compatibles con adenocarcinoma de próstata.

ESTUDIOS	TOTAL	%
ESTUDIOS ÚTILES COMPATIBLES CON ADENOCARCINOMA	97	
NEGATIVO PARA ADENOCARCINOMA	46	47
	51	53

TUMORES DE TEJIDOS BLANDOS

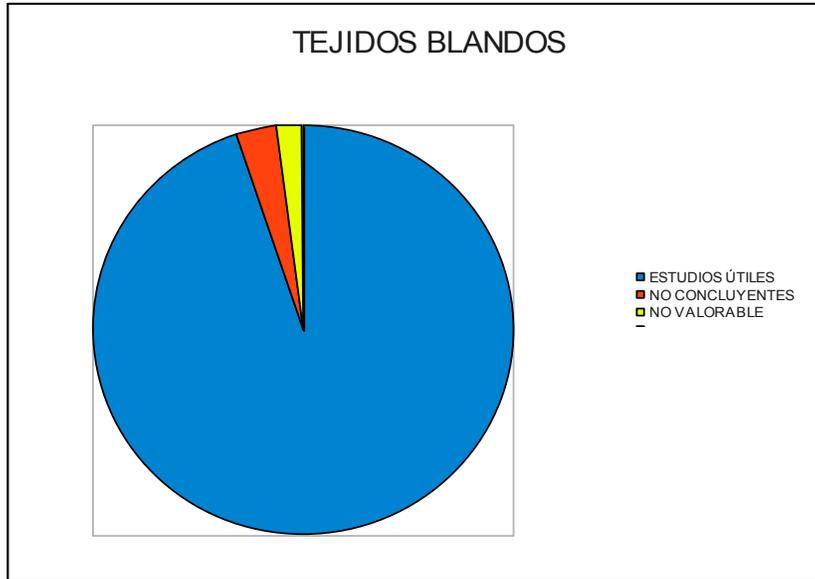
Tumores de origen mesenquimatoso, o en los cuales se utilizaron los siguientes marcadores: Actina específica de músculo liso, Vimentina, Calponina, PS100, CD34, Desmina, Mioglobina, citoqueratinas, CD99.

- 65 estudios realizados.
- Se obtuvieron 62 estudios útiles.
- 2 estudios fueron no concluyentes por no disponer de marcadores más específicos.
- Un estudio no fué valorable por presentar material inadecuado.

Tabla 6. Resultados de los estudios realizados con marcadores para tumores de tejidos blandos

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS Y REALIZADOS	65	
ESTUDIOS ÚTILES	62	95
NO CONCLUYENTES	2	3
NO VALORABLE	1	2

Fig. 2. Resultados de los estudios realizados con marcadores para tumores de tejidos blandos.



Fuente: Archivos Patología HRLALM.

LESIONES RELACIONADAS CON VPH

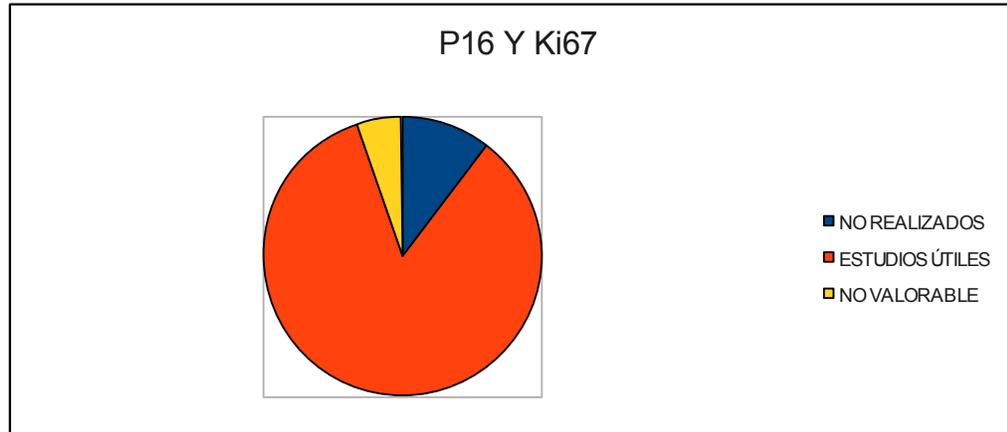
Se realizaron los marcadores P16 y Ki67 en las lesiones escamosas de cervix, vagina, vulva, pene, piel, entre otros, para identificar si la lesión por VPH es de alto riesgo.

- 38 estudios programados.
- 4 estudios no se realizaron.
- Se obtuvieron 31 estudios útiles.
- 2 estudios no fueron valorables debido a material agotado o por no localizarse la zona sospechosa en los cortes para inmunohistoquímica.
- De los 31 estudios positivos para lesión escamosa por VPH, 18 fueron positivos para alto riesgo y 13 negativos para alto riesgo.

Tabla 7. Total de estudios realizados con los marcadores P16 y Ki 67, para identificar alto riesgo en lesiones por VPH.

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS	38	
NO REALIZADOS	5	11
ESTUDIOS ÚTILES	31	84
NO VALORABLES	2	5

Fig. 3. Total de estudios realizados con los marcadores P16 y Ki 67, para identificar alto riesgo en lesiones por VPH.

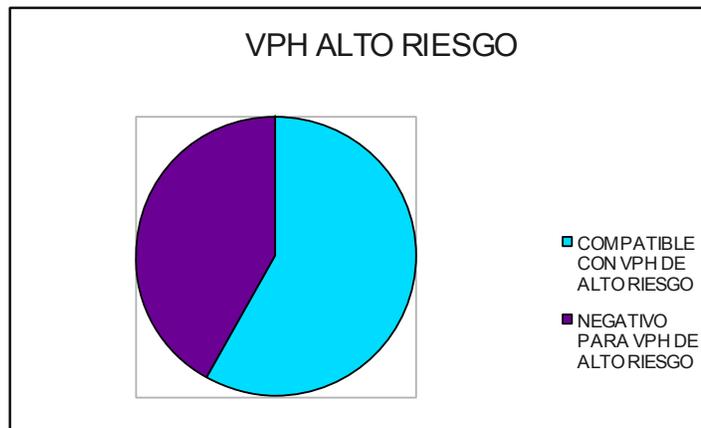


Fuente: Archivos Patología HRLALM.

Tabla 8. Total de estudios identificados con patrón de inmunohistoquímica compatible con VPH de alto riesgo.

ESTUDIOS	TOTAL	%
ESTUDIOS ÚTILES COMPATIBLE CON VPH DE ALTO RIESGO	31	
NEGATIVO PARA VPH DE ALTO RIESGO	18	58
	13	42

Fig. 4. Total de estudios identificados con patrón de inmunohistoquímica compatible con VPH de alto riesgo.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

Tabla 9. Sitio anatómico del tejido analizado, diagnóstico histopatológico, resultado de los marcadores realizados para identificar la infección por VPH de alto riesgo

SITIO	DX HISTOLÓGICO	P 16	Ki 67
Bx Cervix	Adenocarcinoma in situ	++	
Bx Cervix	Condiloma atípico, NIC 2, LIEAG	-	Prolif. Mod. ++
Bx Vulva	I. C. camb. Epiteliales degenerativos	-	
Bx Cervix	Atrofia y cambios sugest. De infecc. VPH	-	+ aislado
Bx reg. anal	Neoplasia intraepit. Del ano NIA 3	+++	+ mas de 2/3
Bx de Cervix	Ca. Epid. No querat. Cel. Gdes. invasor	+++	
Bx Cervix	Lesión escamosa limítrofe	-	
Bx Vagina	Ca epid. No querat. invasor	-	
Bx Piel	Querat. Seb. Irritada c/Transf. Bowenoide	+++	
Disecc. Rad. De cuello	Ca. Epidermoide bien diferenciado, queratinizante, invasor.	-	

Tabla 9. Continuación.

SITIO	DX HISTOLÓGICO	P 16	Ki 67
Bx Vagina	Condiloma ordinario con patrón papilomatoso.	-	
Bx Vulva	Ca. Epidermoide bien diferenciado.	+	39 x (40X)
Bx Cervix	Adenocarcinoma in situ	+	60%
Bx Cervix	Pb. Adenocarcinoma	++	
Conducto anal	Ca. Epidermoide mod. Diferenciado.	+++	
Bx Vagina	Fibrosis y atrofia del epitelio escamoso.	-	3.7x10 HPF
Bx Cervix	Condiloma ordinario, NIC I, LIEBG	-	20%
Bx Cervix	Ca. Epidermoide querat. Bien dif.	-	40%
Fosa nasal	Ca. Epid no queratinizante poco dif.	+++	
Bx pene	Ca. Epid. Verrucoso querat. Inv. Mod. Dif.	++++	
Bx Pene	Ca epidermoide querat. Bien dif. Invasor.	-	+++
Bx Pene	Ca. de células escamosas verrucoso.	-	70%
Bx Cervix	Adenocarcinoma papilar bien diferenciado	++	80%

Bx piel de Pene	Acantosis moderada, displasia moderada	NV	40%
Bx Vagina	Adenocarcinoma mod. Diferenciado.	+++	50%
Bx Cervix	LIEAG, NIC 2	++	40%
Bx Piel	Comp. Liquen escleroso, NIPE.	-	20%
Bx Cervix	Adenocarcinoma papilar seroso.	++++	60%
Bx Cervix	Atipia leve de epitelio metaplásico.	-	10%
Bx Piel	Ca. epidermoide in situ (Bowen).	+++	
Bx Prepucio	Ca. epid bien dif. No queratinizante.	+++	

VPH: Virus del Papiloma Humano. **LIEAG:** Lesión Intraepitelial Escamosa de Alto Grado.

LIEBG: Lesión intraepitelial Escamosa de Bajo Grado. **NIPE:** Neoplasia Intraepitelial Escamosa del Pene.

CARCINOMA NEUROENDÓCRINO.

Tumores compatibles con diferenciación neuroendócrina, se utilizaron principalmente Cromogranina y Sinaptofisina.

- 26 estudios realizados.
- Se obtuvieron 23 estudios útiles.
- 3 estudios no fueron concluyentes, debido a la falta de marcadores.

Tabla 10. Resultado de los estudios realizados con marcadores para diferenciar neoplasias neuroendócrinas.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	26	
ESTUDIOS ÚTILES	23	88.5
NO CONCLUYENTES	3	11.5

**CARCINOMA DE
DESCONOCIDO.**

ESTUDIOS	TOTAL	%
PROGRAMADOS	24	
NO REALIZADOS	1	2
ESTUDIOS ÚTILES	19	93
NO CONCLUYENTES	4	5

ORIGEN

Lesiones
metastásicas

generalmente
poco diferenciadas

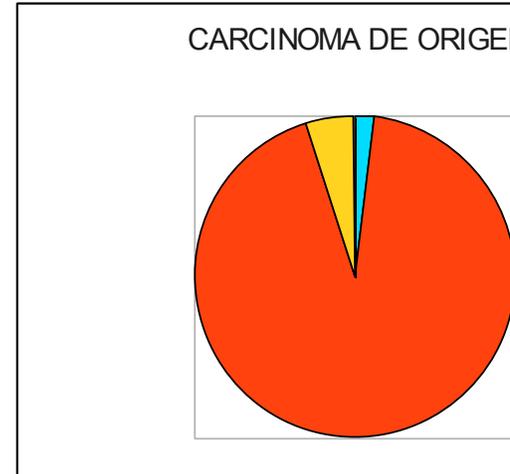
de diferentes sitios anatómicos, se utilizaron los marcadores Antígeno carcinoembrionario, citoqueratinas, PS100, HMB 45 y Cromogranina.

- Se programaron 24 estudios.
- Un estudio no se realizó por no disponer de las laminillas.
- En nueve estudios se sugiere el origen del carcinoma.
- Seis estudios son compatibles con adenocarcinoma metastásico.
- En cuatro estudios se confirma la naturaleza del tumor (un carcinoma de ovario, un carcinoma broncogénico, un carcinoma con diferenciación neuroendócrina y un melanoma).
- Dos estudios son compatibles con adenocarcinoma poco diferenciado.
- Dos estudios son compatibles con carcinoma indiferenciado.

Tabla 11. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica realizados a los carcinomas de origen desconocido.

Fig. 5. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica realizados a los carcinomas de origen desconocido.

SITIO	NO. DE CASOS	%
Tubo Digestivo	6	35
Aparato Respiratorio	3	17
Endometrio	2	12
Ovario	2	12
Metastásicos de Mama	2	12
Nasal	1	6



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

ADENOCARCINOMAS DE SITIOS ESPECÍFICOS.

Lesiones compatibles con adenocarcinoma de sitios específicos o metastásicos que no se encuentran incluidas en los grupos anteriores. Se realizó inmunohistoquímica para corroborar el diagnóstico previo realizado con H&E. Los marcadores utilizados fueron principalmente Antígeno carcinoembrionario y citoqueratinas.

- Se realizaron diecisiete estudios.
- Se confirmaron seis estudios de adenocarcinoma del tubo digestivo.
- Tres estudios de adenocarcinoma del aparato respiratorio.
- Dos estudios de adenocarcinoma de endometrio.
- Dos adenocarcinomas de ovario.
- Dos carcinomas metastásicos de mama.
- Un adenocarcinoma nasal.
- Un adenocarcinoma de vía biliar.

Tabla 12. Distribución de los casos de Adenocarcinoma por sitios anatómicos.

Vía Biliar	1	6
------------	---	---

CARCINOMA EPIDERMOIDE

Lesiones de piel, mucosa lingual, laríngea, bronquial, tejido óseo, hepático y ovárico, en las cuales se quería corroborar que se trataba de este tumor debido a la presencia de atipias de células escamosas, células metastásicas, o por encontrarse en conjunción con otras lesiones. Los marcadores utilizados fueron principalmente las citoqueratinas, Ki 67 y P16.

- Se realizaron once estudios.
- Se obtuvieron nueve estudios útiles.
- De estos, dos estudios fueron negativos para carcinoma epidermoide.
- Dos estudios no fueron concluyentes, debido a que el material no fué útil y a que no hubo una adecuada conservación antigénica.

Tabla 13. Resultados de los estudios realizados con marcadores para la diferenciación de carcinoma epidermoide.

ESTUDIOS	TOTAL	%
REALIZADOS	11	
ESTUDIOS ÚTILES	9	82
NO CONCLUYENTES	2	18

LESIONES PIGMENTADAS DE PIEL

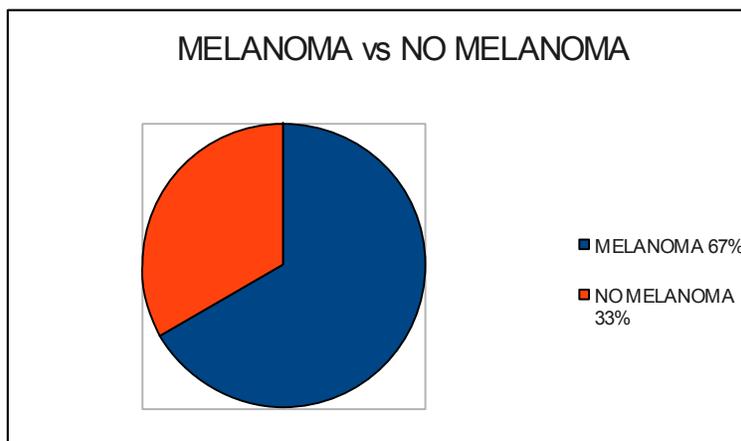
Lesiones compatibles con melanoma o en las cuales se quería descartar ésta. Se utilizó principalmente HMB45 y PS100.

- Se realizaron 9 estudios.
- En seis estudios se confirmó el diagnóstico de melanoma.
- En tres estudios se descartó melanoma y se pudo corroborar la naturaleza benigna de la lesión.

Tabla 14. Resultados de los estudios realizados con marcadores para la diferenciación de Melanoma.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	9	
ESTUDIOS ÚTILES	9	100

Fig. 6. Total de casos positivos y negativos para melanoma.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

TUMORES DE LA ESTROMA GASTROINTESTINAL

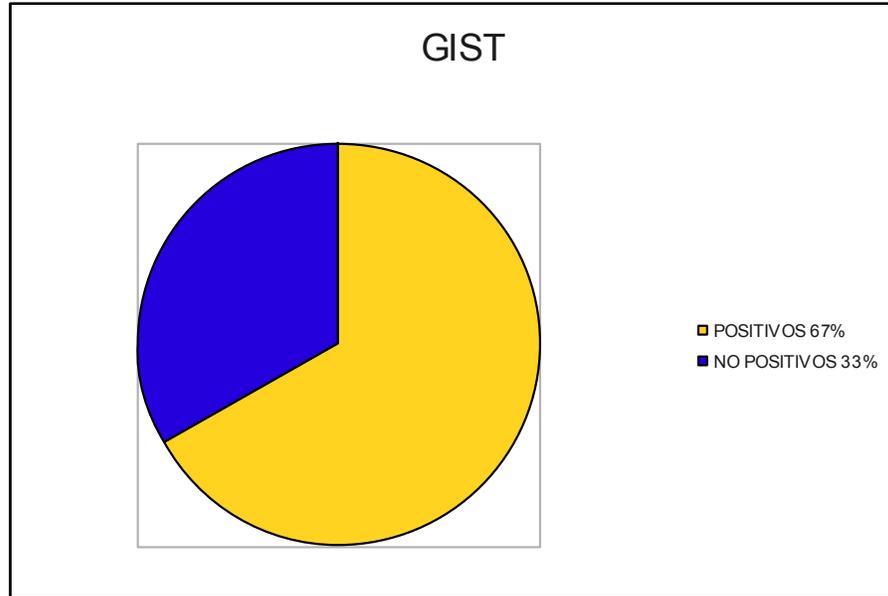
Se utilizaron los marcadores CD 117, PS100, Desmina, Actina Especifica de Músculo Liso y Antígeno de Membrana Epitelial, para corroborar o descartar tumores de este tipo.

- Se realizaron seis estudios.
- Se confirmaron cuatro estudios positivos para Tumores de la estroma gastrointestinal (GIST).
- Dos estudios fueron negativos para GIST.

Tabla 24. Resultados de los estudios realizados con marcadores para la diferenciación de GIST.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	6	
ESTUDIOS ÚTILES	6	100

Fig. 7. Resultados de los estudios realizados con marcadores para la diferenciación de GIST.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

MESOTELIOMA vs ADENOCARCINOMA

Se estudiaron dos

ESTUDIO	TOTAL	%
---------	-------	---

 biopsias de pleura y dos bloques celulares de líquido pleural, para diferenciar mesotelioma de adenocarcinoma.

- Se realizaron cuatro estudios, se utilizaron los marcadores CK7, CK20, Calretinina y antígeno carcinoembrionario.
- En dos estudios se confirmó el diagnóstico de mesotelioma.
- Un estudio fue a favor de adenocarcinoma.
- En un estudio que mostraba células atípicas, se realizó inmunohistoquímica, concluyéndose negativo para malignidad.

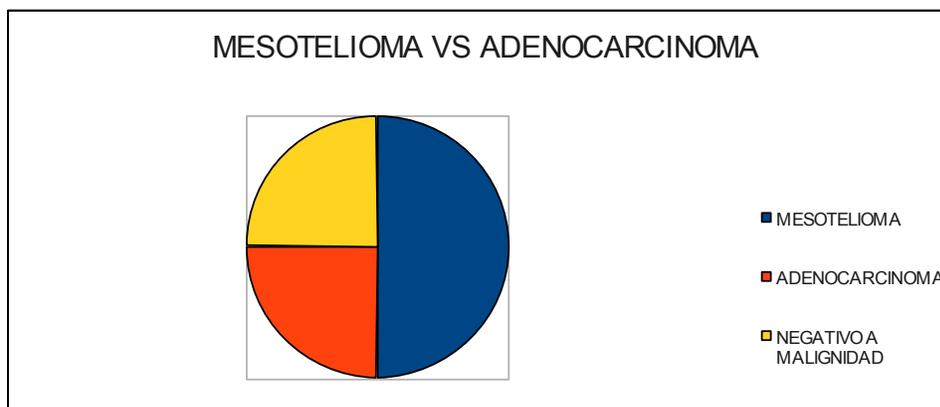
Tabla 15. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica para diferenciar mesotelioma y adenocarcinoma.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	4	
ESTUDIOS ÚTILES	4	100

Tabla 16. Distribución de los casos de mesotelioma y adenocarcinoma.

MESOTELIOMA	2	50
ADENOCARCINOMA	1	25
NEGATIVO A MALIGNIDAD	1	25

Fig. 8. Distribución de los casos de mesotelioma y adenocarcinoma.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

MAMA.

Lesiones de mama, no incluidas en otros grupos, sospechosas de carcinoma, entre otros tumores benignos y malignos; en estos tumores se utilizaron los marcadores PS100, Sinaptofisina, Ki 67, citoqueratinas y P63.

- Se realizaron 8 estudios.
- Los 8 estudios fueron útiles al lograr la confirmación de los diagnósticos.

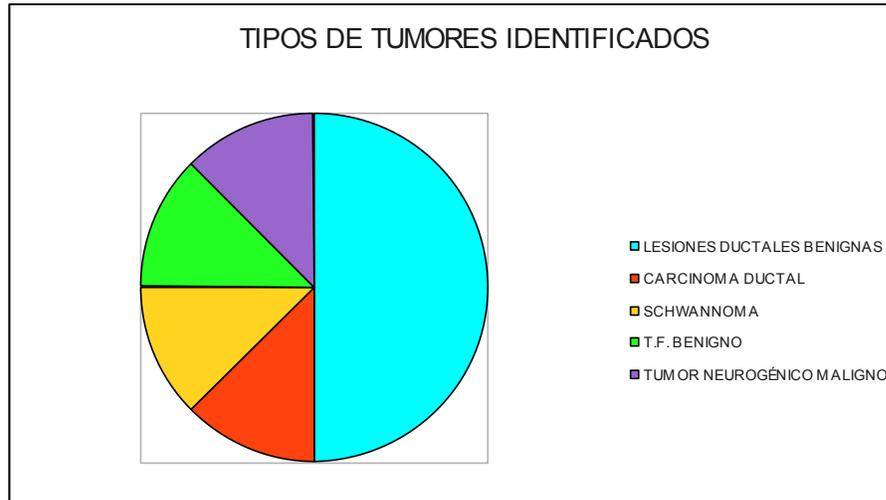
Tabla 17. Resultado de los estudios de mama con marcadores para identificar carcinoma y otras lesiones.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	8	
ESTUDIOS UTILES	8	100

Tabla 18. Total de los tipos de tumores identificados.

ESTUDIO	TOTAL	%
TOTAL	8	
LESIONES DUCTALES BENIGNAS	4	50
CARCINOMA DUCTAL	1	12.5
SCHWANNOMA	1	12.5
TUMOR FILODES BENIGNO	1	12.5

Fig. 9. Total de los tipos de tumores identificados.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

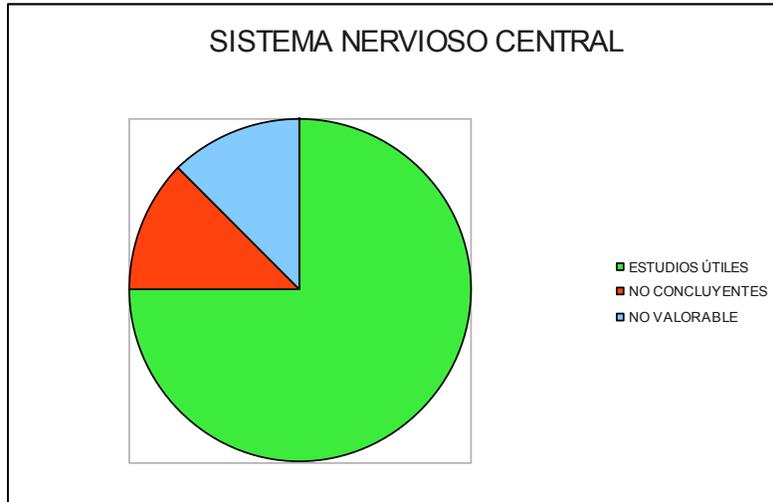
Tumores primarios del sistema nervioso central, se utilizaron los marcadores PS100, Vimentina, Sinaptofisina, CD99, Panqueratinas y Antígeno de Membrana Epitelial.

- 8 estudios realizados.
- Se obtuvieron seis estudios útiles, al lograr la confirmación de los diagnósticos previos realizados por H&E, que fueron: meningioma fibroblástico, adenoma cromóforo, ependimoma celular, meningioma de células claras, tumor rabdoide maligno y neuroblastoma.
- Un estudio no fué concluyente por la falta del marcador GFAP, para diferenciar un tumor de estirpe mesenquimatoso neurogénico.
- Un estudio no fué valorable debido a material desprendido, el cual se trataba de un probable meduloblastoma.

Tabla 19. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica en neoplasias del Sistema Nervioso Central.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	8	
ESTUDIOS ÚTILES	6	75
NO CONCLUYENTE	1	12.5
NO VALORABLE	1	12.5

Fig. 10. Resultados de los estudios con marcadores para diferenciación en neoplasias del Sistema Nervioso Central.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM.

SISTEMA URINARIO

Se utilizaron los marcadores CKH, CK20, CK7, PS100, Calponina y Actina Específica de Músculo Liso.

- Se realizaron cinco estudios.
- Se obtuvo utilidad en cuatro estudios al confirmar el diagnóstico histológico, los diagnósticos fueron: Nefroma mesoblástico celular atípico, carcinoma urotelial metastásico a hígado, carcinoma urotelial infiltrante a tejido prostático y carcinoma renal compatible con adenocarcinoma.
- Un estudio no fue concluyente para carcinoma urotelial, debido a que la reacción de inmunohistoquímica fue poco común para este tipo de tumores y se sugiere la posibilidad de que se trate de un carcinoma extrínseco posiblemente de aparato genital.

Tabla 21. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica en neoplasias del sistema urinario.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	5	
ESTUDIOS ÚTILES	4	80
NO CONCLUYENTE	1	20

LESIONES DIVERSAS DE PIEL.

Lesiones de piel no incluidas en otro grupo

- Se realizaron cuatro estudios.
- Se utilizaron los marcadores PS100, CKB, CKH, HMB45, CD3 y CD20.
- En los cuatro estudios se confirmaron los diagnósticos histológicos.
- Los diagnósticos fueron: Lepra tuberculoide, Pitiriasis alba, Poiquilodermia con reacción de linfocitos T y Carcinoma basocelular.

Tabla 22. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica en lesiones diversas en piel.

ESTUDIO	TOTAL
REALIZADOS	4
ESTUDIOS ÚTILES	4

TIROIDES.

- Se realizaron 4 estudios.
- Un carcinoma medular al cual se le realizó Sinaptofisina la cual fué positiva en células neoplásicas; la reacción no es específica, no se llegó a un diagnóstico definitivo por no contar con calcitonina.
- En un carcinoma de células de Hürttle: no se encontró la zona sospechosa en los cortes para inmunohistoquímica.
- Se descartó una neoplasia folicular intratorácica, concluyéndose de que se trataba de tejido tiroideo ectópico.
- Se descartó un tumor maligno de tiroides.

Tabla 23. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica en tumores tiroideos.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	4	
ESTUDIOS ÚTILES	2	50
NO CONCLUYENTES	2	50

TUMORES DE GLÁNDULA SALIVAL.

- Se realizaron 3 estudios, los marcadores utilizados fueron: AEM, CKL, CKH, CK7, CK20, P63, Vimentina, Calponina, PS100 y Ki 67.
- Se confirmaron tres casos de adenoma pleomorfo, uno de los cuales presenta transformación maligna, compatible con mioepitelioma.

Tabla 24. Resultados de los estudios de inmunohistoquímica realizados en lesiones de glándula salival.

ESTUDIO	TOTAL
REALIZADOS	3
ESTUDIOS ÚTILES	3

HÍGADO.

- Se realizaron 2 estudios, los marcadores utilizados fueron BCl 2, CD3, CD20, CD34 y CD68.
- Se confirmó el diagnóstico de hepatitis crónica, descartando que se tratara de un linfoma y se corroboró el diagnóstico de hiperplasia nodular focal.

Tabla 25. Resultados de los estudios de IHQ realizados en lesiones hepáticas.

ESTUDIO	TOTAL
REALIZADOS	2
ESTUDIOS UTILES	2

TIMO.

- Se realizaron dos estudios, los marcadores utilizados fueron ACE, Citoqueratinas, CD3, CD20, CD45, P63, SNF y Vimentina.
- Los dos estudios fueron útiles al confirmar el diagnóstico y son: timoma epitelial de células fusiformes y carcinoma indiferenciado del timo.

Tabla 26. Resultado de los estudios de inmunohistoquímica en neoplasias del timo.

ESTUDIO	TOTAL	%
REALIZADOS	2	
ESTUDIOS ÚTILES	2	100

PÁNCREAS.

- Se realizaron 2 estudios, los marcadores utilizados fueron ACE, CK7, Ki67 y Desmina.
- Se confirma una neoplasia intraepitelial pancreática IA (metaplasia mucinosa) y en la otra se corrobora que no existen datos de malignidad y que existe una disociación de la capa muscular por tejido fibroso.

Tabla 27. Resultados de los estudios de IHQ realizados en tumores pancreáticos.

ESTUDIO	TOTAL
REALIZADOS	2
ESTUDIOS ÚTILES	2

PLACENTA.

En un estudio que presenta degeneración hidrópica de las vellosidades coriales, compatible con aberración cromosómica, se somete a estudio para identificar citomegalovirus, el cual fué negativo.

TESTICULO.

Se confirmó el diagnóstico de teratocarcinoma de testículo, mediante la utilización de CK7.

RESULTADOS FINALES

Los estudios de carcinoma de mama (receptores de estrógeno, progesterona y Her 2 neu) la inmunotipificación de los linfomas y la identificación de lesiones compatibles con VPH de alto riesgo, son utilizados con fines de pronóstico y tratamiento y en su conjunto suman 555 (61.6%) de los estudios de inmunohistoquímica realizados.

Por su parte los estudios que se utilizaron para la diferenciación y corroboración del diagnóstico fueron 346 y constituyen el 38.4% de los estudios de inmunohistoquímica realizados.

Tabla 28. Resultados del total de los estudios de inmunohistoquímica realizados con fines de diferenciación y corroboración del diagnóstico.

ESTUDIOS	TOTAL	%
REALIZADOS	346	
ESTUDIOS UTILES	316	91
NO CONCLUYENTES	28	8.4
NO VALORABLES	2	0.6

Fig. 11. Resultados del total de los estudios de inmunohistoquímica realizados con fines de diferenciación y corroboración del diagnóstico.



FUENTE: Archivos Patología HRLALM

DISCUSION

Como pudo observarse la mayoría de los estudios fueron realizados para conocer los factores pronósticos y de tratamiento en las pacientes con cáncer de mama, los cuales se hacen de forma rutinaria. Entre los estudios realizados también con este fin encontramos la inmunotipificación de los linfomas y la identificación de lesiones compatibles con VPH de alto riesgo.

Se demuestra su utilidad al permitirnos establecer un diagnóstico preciso, en los casos “problema” o que no es concluyente el diagnóstico histológico, debido a que son tumores con múltiples diagnósticos diferenciales o a su presentación de un modo inusual.

La cantidad de estudios útiles refleja la aplicación adecuada de los marcadores que hubo al seleccionar los casos programados

En los casos no concluyentes podemos inferir que el diagnóstico histológico fue erróneo, se utilizaron anticuerpos incorrectos y faltaron marcadores más específicos.

Los problemas de orden técnico se reflejaron en los casos que fueron no valorables ocasionados por una mala conservación antigénica, falta de material, ausencia de lesión en los cortes para inmunohistoquímica y en los casos en los que no se realizaron por falta de disposición del material.

En conclusión puede decirse que el uso de la inmunohistoquímica ha contribuido en el área de Patología Quirúrgica al diagnóstico preciso y clasificación de tumores. Es innegable su utilidad en la aportación de pautas pronósticas y en la determinación de algunas formas específicas de tratamiento.

Es importante recordar que para la selección adecuada de los anticuerpos es necesario que el diagnóstico de presunción sea lo más exacto posible, e incluir siempre por lo menos un diagnóstico diferencial.

En la parte técnica es necesario contar con una adecuada conservación de antígenos y un procedimiento adecuado, para su óptima interpretación, la cual debe ser realizada con una correlación morfológica estricta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Buys DLJ, Lara TCO, Ortiz HC. Interpretación básica de inmunohistoquímica. Características generales de diversos anticuerpos y su localización celular y subcelular. *Pat Rev Lat* 2007; 45 (3): 126-40.
2. Rosai J. *Special techniques in surgical pathology*. Mosby 2004. pp: (45-63).
3. Taylor CR, Shi SR, Barr NJ, Wu N. *Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls and standardization*. Churchill Livingstone 2006. pp: (1-37).
4. True LD. Quality control in molecular immunohistochemistry. *Histochem Cell Biol* 2008; 130: 473-480.
5. Lester SC. *Special Studies*. Elsevier 2006. pp: (74-77).
6. Chan JKCC, MBBS, FRCPath. Advances in immunohistochemistry: impact on surgical pathology practice. *Semin Diagn Pathol* 2000;17 (3): 170-177.
7. Chu PG, Chang KL, Arber DA, Weiss LM. Immunophenotyping of hematopoietic neoplasms. *Semin Diagn Pathol* 2000 17 (3) 236-256.
8. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clarck GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod pathol* 1998; 11 (2): 155-168.
9. Ross JS y cols. Targeted therapy in breast cancer. The Her 2/neu Gene and Protein. *Mol Cell Prot* 2004. 3: 379-398.
10. Tan D, Zander DS. Immunohistochemistry for assessment of pulmonary and pleural neoplasms: a review and update. *Int J Clin Exp Pathol* 2008; 1:19-31.
11. Molinié V y cols. Diagnostic Utility of a p63/ alpha-methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate. *Mod Pathol* 2004; 17: 1180-1190.

12. Demellawy DE, Nasr A, Alowami S. Application of CD 56, p63, and CK 19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. *Diagn Pathol* 2008; 3:5
13. Eyzaguirre E, Haque AK. Application of immunohistochemistry to infections. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 424-431.
14. Benevolo M y cols. Immunohistochemical expression of P16 is predictive of HR-HPV infection in cervical low-grade lesions. *Mod Pathol* 2006, 19: 384-391.
15. Suster S. Recent Advances in the application of immunohistochemical markers for the diagnosis of soft tissue tumors. *Diagn Pathol* 2000, 17:225-235.
16. Chirieac LR y cols. Correlation of immunophenotype with progression-free survival in patients with Gastrointestinal stromal tumor treated with imatinib mesylate. *Cáncer*. 2006; 107: 2237-44.
17. Dennis JL. Markers of adenocarcinoma characteristic of the site of origin: Development of a diagnostic algorithm. *Clin Cancer Res* 2005; 11 (10): 3766-3772.
18. Seidal T, Balanton AJ, Battifora H. Interpretation and quantification of immunostains. *Am J Surg Pathol* 2001; 25 (9): 1204-1207.
19. Leong A S Y. Pitfalls in diagnostic immunohistology. *Adv Anat Pathol* 2004; 11: 86-93.
20. Varadhachary GR, Abbruzzese JL, Lenzi R. Diagnostic Strategies for unknown primary cancer. *Cancer* 2004, 100:1776-1785.