

# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES MORFOLÓGICAS PREMALIGNAS ASOCIADAS  
AL CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR Y SU COORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN  
DE p53**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**PRESENTA  
DR. SINHUÉ ALEJANDRO CISNEROS VIEYRA**

**ASESOR DE TESIS :  
DRA. ROCÍO ARREOLA ROSALES**

**No. De Registro de Protocolo F-2010-3601-118**

**MÉXICO, D.F**

**FEBRERO 2011**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**DRA. DIANA G. MENEZ DIAZ**

**JEFA DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**DRA. MA. DE LOURDES CABRERA MUÑOZ**

**TITULAR DEL CURSO DE POSGRADO EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**DRA. ROCÍO LORENA ARREOLA ROSALES**

**MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**UMA HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**



## REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

Delegación: SUR DEL DISTRITO FEDERAL \_\_\_\_\_ Unidad de adscripción: \_UMAE  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXX \_\_\_\_\_

Asesor: Nombre: \_\_\_DRA. ROCÍO LORENA ARREOLA ROSALES\_ Matrícula\_10900497\_

Paterno: \_\_CISNEROS \_\_\_\_\_ Materno: \_VIEYRA\_ Nombre: \_\_SINHUÉ ALEJANDRO \_\_\_\_\_

Matrícula: \_\_\_99377300 \_\_\_\_\_ Especialidad: \_\_\_\_\_ANATOMÍA PATOLÓGICA \_\_\_\_\_

Fecha Grad. 28 \_\_\_ / \_\_\_02\_\_\_ / \_\_\_2011 \_\_\_\_\_

Título de la tesis:

### DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES MORFOLOGICAS PREMALIGNAS ASOCIADAS AL CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR Y SU COORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN DE p53

Resumen:

#### INTRODUCCIÓN

El carcinoma de la vesícula biliar (CVB) es una de las neoplasias más frecuentes en México. Esta entidad predomina en mujeres, y alrededor del 90% son diagnosticados después de los 50 años.

Actualmente está bien aceptado que existe una progresión de metaplasia) a displasia y a carcinoma in situ y posteriormente el desarrollo de adenocarcinoma invasor sin que se conozcan aún los factores genéticos que provocan esta secuencia. El p53 es un gen implicado en la síntesis y reparación del DNA. Está implicado en la carcinogénesis del carcinoma de vesícula biliar, siendo relacionado con la atipia citológica, la alta proliferación y el grado de invasividad del tumor. **HIPOTESIS** Se encuentran lesiones de displasia de alto grado asociadas al adenocarcinoma de vesícula biliar y estas expresan el marcador de proliferación celular p53 en una intensidad igual o menor al encontrado en el adenocarcinoma **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se buscó en los registros del archivo de patología en el periodo de Enero de 2008 a Octubre de 2009 y se seleccionaron aquellos diagnosticados como carcinoma de vesícula biliar. De cada caso se obtuvieron las laminillas, las cuales fueron reanalizadas para confirmación del diagnóstico y se realizó tinción de PAS a todos ellos además de el marcador p53 por inmunohistoquímica. **RESULTADOS** Se encontraron 20 casos diagnosticados como neoplasias malignas. Se encontraron lesiones displásicas asociadas en los 7 de los 9 casos estudiados, 5 de los cuales correspondieron a displasia y 1 a carcinoma in situ. Se observó expresión del marcador con positividad moderada a intensa en las lesiones displásicas en más del 50% de las células en las áreas de displasia y mayor de 80% en las áreas de adenocarcinoma de tipo convencional.

**CONCLUSIONES** La frecuencia de los diferentes tipos de adenocarcinoma en nuestra unidad es similar a lo reportado en la literatura con el tipo convencional bien diferenciado como el más frecuente Es posible encontrar lesiones premalignas en las neoplasias malignas de la vesícula biliar a excepción del carcinoma mucinoso. Existe correlación entre la displasia en vesícula biliar y la expresión intensa del marcador p53, la cual aumenta el porcentaje de positividad en su progresión a adenocarcinoma.

Palabras Clave:

1) \_\_\_Adenocarcinoma\_2) \_\_\_Vesícula biliar \_\_\_3) \_\_\_Displasia \_\_\_4) \_\_\_\_\_Carcinoma in situ

5) \_\_\_\_\_p53\_\_\_\_\_ Pags. \_\_\_35\_\_\_ Ilus. \_\_\_\_\_20\_\_\_\_\_

( Anotar el número real de páginas en el rubro correspondiente sin las dedicatorias ni portada )

( Para ser llenado por el jefe de Educación e Investigación Médica )

Tipo de Investigación: \_\_\_\_\_

Tipo de Diseño: \_\_\_\_\_

Tipo de Estudio: \_\_\_\_\_

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES SONIA Y ANTONIO**

**Por su apoyo incansable en todas las etapas de mi formación, su amor y comprensión.**

### **A MI FAMILIA**

**Que siempre ha estado en cada momento y me ha brindado su soporte incondicional, su cariño y entendimiento. A mi tía Paty que siempre me inculcó el amor por la profesión Médica y me brindó su apoyo total.**

**-No hay palabras para agradecerles lo mucho que me han dado-**

## **GRACIAS**

**A mis profesores en el Centro Médico Nacional Siglo XXI que me mostraron la entrega y dedicación a la especialidad, y compartieron conmigo su conocimiento y experiencia. En especial a la Dra. Rocío Arreola por su amistad y apoyo para concluir este ciclo.**

## **ÍNDICE**

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
HIPOTESIS .....	19
OBJETIVOS .....	20
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
RESULTADOS.....	24
CONCLUSIONES.....	33
REFERENCIAS .....	34

## RESUMEN

### **DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES MORFOLOGICAS PREMALIGNAS ASOCIADAS AL CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR Y SU COORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN DE p53**

*Cisneros Vieyra Sinhué Alejandro, Arreola Rosales Rocío L.*

#### **INTRODUCCIÓN**

El carcinoma de la vesícula biliar (CVB) es una de las neoplasias más frecuentes en países como Chile, y México. Esta entidad predomina en mujeres, y alrededor del 90% son diagnosticados después de los 50 años.

Actualmente está bien aceptado que existe una progresión de metaplasia) a displasia y a carcinoma in situ y posteriormente el desarrollo de adenocarcinoma invasor sin que se conozcan aún los factores genéticos que provocan esta secuencia.

El p53 es un gen implicado en la síntesis y reparación del DNA. Está implicado en la carcinogénesis del carcinoma de vesícula biliar, siendo relacionado con la atipia citológica, la alta proliferación y el grado de invasividad del tumor.

#### **HIPOTESIS**

Se encuentran lesiones de displasia de alto grado asociadas al adenocarcinoma de vesícula biliar y estas expresan el marcador de proliferación celular p53 en una intensidad igual o menor al encontrado en el adenocarcinoma

#### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se buscó en los registros del archivo de patología en el periodo de Enero de 2008 a Octubre de 2009 y se seleccionaron aquellos diagnosticados como carcinoma de vesícula biliar. De cada caso se obtuvieron las laminillas, las cuales fueron reanalizadas para confirmación del diagnóstico y se realizó tinción de PAS a todos ellos además de el marcador p53 por inmunohistoquímica.

#### **RESULTADOS**

Se encontraron 20 casos diagnosticados como neoplasias malignas. Se encontraron lesiones displásicas asociadas en los 7 de los 9 casos estudiados, 5 de los cuales correspondieron a displasia y 1 a carcinoma in situ. Se observó expresión del marcador con positividad moderada a intensa en las lesiones displásicas en más del 50% de las células en las áreas de displasia y mayor de 80% en las áreas de adenocarcinoma de tipo convencional.

#### **CONCLUSIONES**

La frecuencia de los diferentes tipos de adenocarcinoma en nuestra unidad es similar a lo reportado en la literatura con el tipo convencional bien diferenciado como el más frecuente. Es posible encontrar lesiones premalignas en las neoplasias malignas de la vesícula biliar a excepción del carcinoma mucinoso. Existe correlación entre la displasia en vesícula biliar y la expresión intensa del marcador p53, la cual aumenta el porcentaje de positividad en su progresión a adenocarcinoma.

**1.DATOS DEL ALUMNO**

**CISNEROS**

**VIEYRA**

**SINHUÉ ALEJANDRO**

**58700857**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**09907213-9**

**2.DATOS DEL ASESOR**

**ARREOLA**

**ROSALES**

**ROCÍO LORENA**

**3.DATOS DE LA TESIS**

**DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES MORFOLÓGICAS PREMALIGNAS  
ASOCIADAS AL CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR Y SU COORRELACIÓN  
CON LA EXPRESIÓN DE p53**

**P 36**

**2011**

# DESCRIPCIÓN DE LAS LESIONES MORFOLÓGICAS PREMALIGNAS ASOCIADAS AL CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR Y SU COORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN DE p53

## AUTORES

*Cisneros Vieyra Sinhué Alejandro, Arreola Rosales Rocío L.*

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma de la vesícula biliar (CVB) es una de las neoplasias más frecuentes en países como Chile, Japón y México. Esta entidad predomina en mujeres, y alrededor del 90% son diagnosticados después de los 50 años.

El adenocarcinoma constituye el tipo más común y usualmente es diagnosticado en estadios avanzados de la enfermedad. (1)

En la mayoría de los casos el diagnóstico es incidental, posterior a colecistectomía por otras causas, principalmente colecistitis crónica. No se ha logrado dilucidar la etiología exacta del adenocarcinoma pero entre los factores asociados o predisponentes se encuentran la colelitiasis, los pólipos, infección de vesícula biliar, carcinógenos químicos y colitis ulcerativa entre otros. (2)

El CVB puede estar ubicado en el cuerpo de la vesícula, en el fondo y en el 4% de los casos el tumor se origina en el conducto cístico.

El 80% de los casos son adenocarcinomas y el resto son tumores indiferenciados o carcinoma de células escamosas.

De los adenocarcinomas 70 % son de tipo intestinal, 20 % de tipo papilar y 10 % cooresponden a carcinoma mucinoso.

En algunos estudios se ha demostrado la presencia de metaplasia gástrica o intestinal asociada a carcinoma más que a otras lesiones no neoplásicas (6)

El p53 es un gen implicado en la síntesis y reparación del DNA, la diferenciación celular y la apoptosis.(3) Se ha identificado mutación en muchas neoplasias y está implicado en la carcinogénesis del carcinoma de vesícula biliar, siendo relacionado con la atipia citológica, la alta proliferación y el grado de invasividad del tumor. (4)

El método de inmunohistoquímica tiene una concordancia del 80% con la secuencia génica y en el caso de adenocarcinoma la expresión de p53 es de hasta 83% de las células neoplásicas, en comparación con los adenomas que solo lo expresan en 16%.(5)}

En el CVB se han descrito una serie de alteraciones genéticas y moleculares, sin embargo, la información existente no es tan extensa como la que existe en relación a otras neoplasias como el cáncer de pulmón, mama y colon. Se ha demostrado también un daño genético global, sin que se conozca la secuencia exacta de las alteraciones genéticas relacionadas con la progresión desde las lesiones intraepiteliales hasta el desarrollo de carcinoma infiltrante.

En la vesícula biliar la participación del gen p53 en la carcinogénesis parece ser un evento precoz. Su presencia en lesiones preneoplásicas en un bajo porcentaje y su significativo aumento en las lesiones tumorales incipientes y avanzadas lo demuestran.

El valor pronóstico de la expresión del gen p53 ha sido reportado en algunos estudios con resultados contradictorios. En algunos de ellos se ha demostrado que los pacientes con expresión normal presentan un mejor pronóstico; en cambio en otros esta relación no ha sido establecida

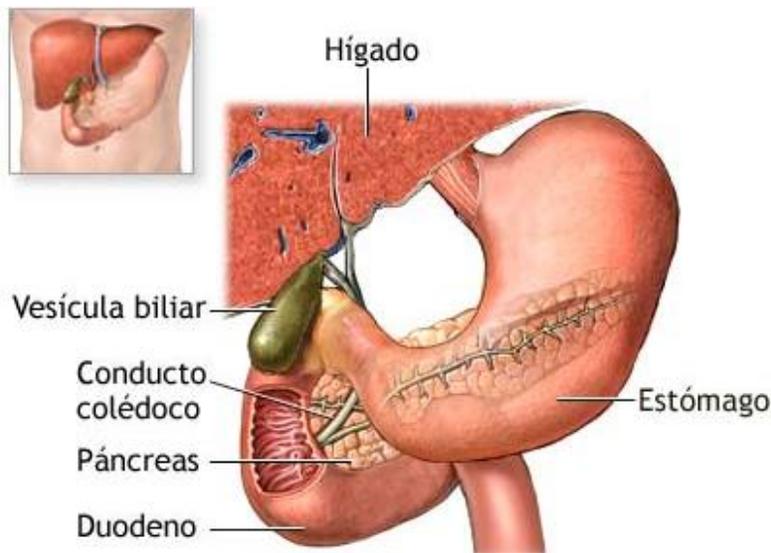
### **ANATOMÍA E HISTOLOGÍA DE LA VESÍCULA BILIAR**

La vesícula biliar se localiza en la fosa vesicular, en la cara inferior del hígado, entre los lóbulos derecho y cuadrado; por lo general es extrahepática pero se presentan algunos casos de vesículas empotradas y menos frecuentemente vesículas intraparenquimatosas. (Figura1.)

Mide de 7 a 10 cm de largo por 3 cm de diámetro transversal en el cuerpo. Su capacidad es de 30 a 35 cc, es piriforme con el fondo hacia adelante llegando hasta el borde hepático; se continúa con el cuerpo y el cuello que termina en la ampolla y luego con el conducto cístico que se une al hepático común en ángulo agudo para formar el colédoco.

El conducto cístico tiene en su interior una válvula espiral llamada de Heister que dificulta su cateterización.

La vesícula biliar está irrigada principalmente por la arteria cística que en la mayoría de casos es rama de la arteria hepática derecha, en otros casos se desprende de la hepática común y con menos frecuencia de la hepática izquierda. El principal medio de fijación es el peritoneo que recubre a la vesícula en la zona que sobresale del lecho hepático.



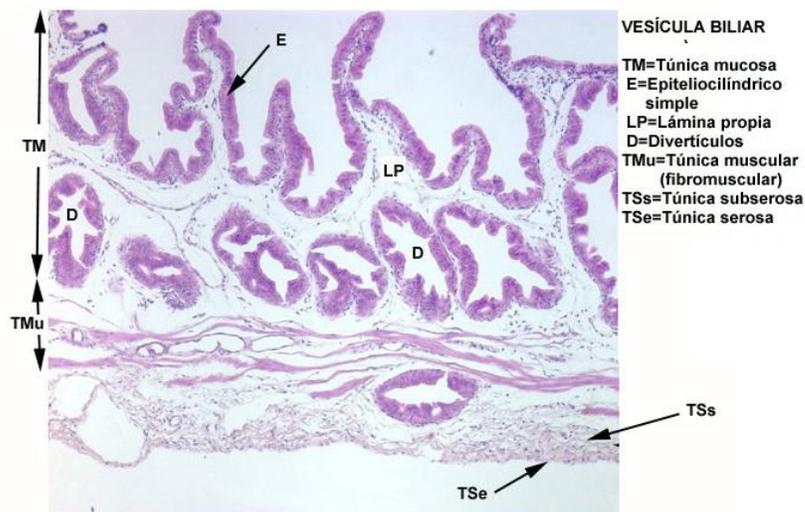
**Figura 1. Situación anatómica de la vesícula biliar**

## HISTOLOGÍA

La pared de la vesícula biliar está compuesta histológicamente por mucosa, lámina propia, capa muscular y tejido conectivo seroso en la superficie externa. No existe muscularis mucosa ni submucosa. (Figura 2)

La zona de contacto con la superficie hepática no contiene serosa y se continúa directamente con el tejido hepático.

La ausencia de muscularis mucosa y submucosa así como la ausencia de un tejido conectivo seroso en la superficie hepática son factores anatómicos que favorecen la diseminación intrahepática precoz de las lesiones neoplásicas de éste órgano.



**Figura 2. Capas histológicas de la vesícula biliar**

## **CARCINOMA DE VESÍCULA BILIAR**

El carcinoma de la vesícula biliar representa el 3% de los tumores malignos, y ocupa el quinto lugar en orden de frecuencia dentro de las neoplasias malignas del aparato digestivo, después de estómago, colon, recto y esófago. Es el más frecuente de todos los tumores biliares, variando la incidencia según los diversos autores desde un 51% a un 96%. De igual forma se considera una relación 2:1 respecto a las neoplasias malignas de la vía biliar intra y/o extrahepática<sup>6</sup>. La incidencia de CVB es extremadamente variable según las regiones geográficas y los grupos étnicos, con un margen de incidencia anual que oscila entre 2-13/100.000 habitantes de media<sup>(11)</sup>.

Las tasas más altas de incidencia se registran en Chile, habitantes del noreste de Europa, Israel y México<sup>(11)</sup>.

La edad de presentación más común se encuentra entre los 65-75 años, estimándose que aproximadamente el 90% de los pacientes tienen más de 50 años. Es más frecuente en el sexo femenino, con proporciones variables que oscilan entre 1,5 y 11:1. Esta preponderancia se ha justificado en la mayor incidencia de colelitiasis en la población femenina, factor que se asocia con mucha frecuencia al adenocarcinoma de la vesícula biliar <sup>(12,13)</sup>.

### **Factores de riesgo**

Aproximadamente el 99% de los tumores malignos de la vesícula biliar se originan en el epitelio, y de ellos el 95% son adenocarcinomas. Se han estudiado algunos factores de riesgo estrechamente vinculados con el CVB que intervendrían de forma variable en su patogenia <sup>(11)</sup>.

### **Colelitiasis**

Aunque no se ha podido demostrar una relación causa-efecto absoluta, se trata del principal factor de riesgo vinculado con el CVB<sup>15</sup>. Asimismo, se ha evidenciado una relación más estrecha con los cálculos de colesterol (hasta el 70% de los hallados en pacientes con CVB son de este tipo), y con el tiempo de evolución de la colelitiasis<sup>(1)</sup>.

Estudios de autopsia han puesto de manifiesto que el riesgo de desarrollar CVB en pacientes con colelitiasis es del 1%; por otro lado, la incidencia de CVB en una población de portadores de litiasis oscila entre el 0,3 y el 3% <sup>(11)</sup>.

Ambas referencias son demasiado bajas como para considerar la litiasis como el único factor carcinogénico directo. Otros factores relacionados con la patogenia de los cálculos van a ejercer influencia indirecta sobre la patogenia del CVB, y son: a) el sexo femenino, el embarazo y la ingesta de estrógenos exógenos; b) la obesidad, la historia familiar de colelitiasis y la ingesta de fármacos como el clofibrato; c) enfermedades digestivas (enteritis regional segmentaria o la fibrosis quística); d) procedimientos quirúrgicos como vagotomías tronculares o resecciones gástricas, y e) otras enfermedades, como síndromes hemolíticos o de inmunodeficiencia(1).

### ***Vesícula en porcelana***

La calcificación de la vesícula biliar o vesícula en porcelana se asocia con CVB en un porcentaje variable entre el 12 y el 61% según las distintas series (promedio del 25%). Desde el punto de vista etiopatogénico, el significado de esta asociación no está del todo claro (1).

### ***Infección de la vesícula biliar***

La estasis biliar, asociada a inflamación crónica e infección, puede inducir transformación carcinomatosa del epitelio vesicular tanto en presencia como en ausencia de litiasis; dado que la infección habitualmente se acompaña de colecistitis crónica, se ha propuesto que las bacterias pueden ser importantes en la patogénesis del carcinoma.

Los portadores crónicos de *Salmonella typhi* y *paratyphi* tienen mayor riesgo de desarrollar neoplasia; otros microorganismos, como *Clostridium* aislado en la bilis de pacientes portadores de litiasis, parecen ser responsables de la producción de sustancias carcinogénicas (1).

## **DIAGNÓSTICO**

### ***Clínica***

Los síntomas de presentación del CVB son poco específicos y difíciles de diferenciar desde el punto de vista clínico de otras patologías más prevalentes, como el cólico biliar o la colecistitis crónica, motivo por el que es difícil de sospechar de forma preoperatoria. (1)

El curso de la enfermedad es generalmente muy rápido, y salvo casos aislados, la mayoría tienen una evolución inferior a un año. El síntoma que se presenta con más frecuencia es el dolor (55-95% según las series), que va a ser visceral, sordo, profundo, persistente, sin exacerbaciones y adscrito al hipocondrio derecho; estas características permiten diferenciarlo del dolor agudo, espasmódico y remitente del cólico biliar. Los otros síntomas que suelen presentar los enfermos con CVB son ictericia (13-50%) y un síndrome tóxico paraneoplásico (7-77%), ambos indicativos de enfermedad tumoral avanzada. Asimismo, la presencia

de una masa palpable en hipocondrio derecho relacionada con CVB va a reflejar irresecabilidad tumoral en un alto porcentaje de los casos. (3)

La ictericia se considera indicador de extensión de vecindad y casi siempre de infiltración de la vía biliar, circunstancia que implica ya un pésimo pronóstico.

### ***Laboratorio***

Los exámenes analíticos no van a presentar alteraciones específicas que puedan orientar el diagnóstico en los casos de cáncer de vesícula biliar. La presencia de perfil hepático de colestasis sólo acompaña a los pacientes con tumores avanzados localmente que presentan ictericia secundaria a infiltración de la vía biliar principal. Una discreta tendencia a presentar anemia y leucocitosis también se ha identificado como indicador de enfermedad neoplásica avanzada. (13)

Los niveles séricos de antígeno carcinoembrionario (CEA) y CA19-9 han sido estudiados como marcadores de cribado potenciales en el CVB, aunque no son específicos. (13)

La medición de valores de CEA mayor de 4 ng/ml tiene un 93% de especificidad para el diagnóstico CVB si se comparan con valores de casos controles en pacientes sometidos a colecistectomía por patología benigna de la vía biliar; no obstante, la sensibilidad es sólo del 50%<sup>46</sup>. El antígeno sérico más utilizado en la práctica clínica y de más valor para el CVB es el CA19-9, sintetizado por las células del epitelio ductal biliar y pancreático en condiciones normales, alcanzando los valores más altos en neoplasias pancreáticas; la cuantificación de valores de CA19-9 mayor de 20 U/ml tiene una sensibilidad del 79,4% y una especificidad del 79,2%, siendo por ello de gran utilidad en casos de hallazgos radiológicos ambiguos o indeterminados (47).

### ***Diagnóstico por imagen***

La ecografía abdominal es el método de imagen diagnóstica inicial. En general, el CVB se descubre ya cuando es una masa voluminosa que ocupa el lecho vesicular (hasta el 50% de los casos) o bien una masa polipoidea (27% del global); las lesiones de pequeñas dimensiones y estadios iniciales suelen ser hallazgos casuales durante un examen ecográfico orientado por sospecha de colelitiasis. Otros hallazgos ecográficos asociados al CVB son: engrosamiento local o generalizado de la pared vesicular; discontinuidades o irregularidades parietales con presencia de submucosa hipoecoica, y presencia de hídrops vesicular en relación con masa que bloquea el infundíbulo vesicular<sup>48</sup>. Asimismo, la ecografía es muy sensible para detectar dilatación de la vía biliar intra y/o extrahepática y la presencia de lesiones metastásicas hepáticas o infiltración directa del parénquima de los segmentos IVb y V. La ecografía-Doppler color es una exploración

no invasiva que permite estudiar los flujos arteriales y portales de los elementos del hilio hepático; a medida que se adquiere experiencia va desplazando a la arteriografía en la identificación de pacientes no resecables por invasión tumoral de estas estructuras. En combinación con la ecografía convencional puede llegar a detectar la invasión portal en hasta el 83-86% de los casos (14).

La tomografía axial computarizada (TAC) es el método más sensible y rentable para estudiar los casos en los que se sospecha CVB. La TAC también es de gran utilidad en el diagnóstico preoperatorio de las metástasis ganglionares de adenocarcinoma de vesícula biliar, circunstancia que puede contraindicar la cirugía o alterar la táctica quirúrgica; un ganglio invadido se define en la TAC como una masa de partes blandas con diámetro anteroposterior de al menos 1 cm que muestra anillo de captación o bien realce heterogéneo. De forma global, sólo un 38-40% de los ganglios histológicamente afectados serán identificados por la TAC.(13)

La ultrasonografía endoscópica (USE) es una técnica diagnóstica de uso muy reciente en la patología biliopancreática, contribuyendo especialmente al diagnóstico de extensión y estadificación de las neoplasias biliares. En un estudio dirigido por Gress para constatar la eficacia de la USE en comparación con la TAC helicoidal para CVB, resultó ser de gran valor, con grados de certeza del 90 frente al 29% para la invasión parietal (T), del 70 frente al 55% para la afección ganglionar (N) y 87 frente al 60% para determinar la presencia de invasión vascular. Su problema está en el alto grado de dependencia del explorador y su escasa disponibilidad.(14)

La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) sólo estará indicada para la confirmación del diagnóstico histológico de masas vesiculares que no se consideran para resección, con el fin de evitar la posible diseminación de un cáncer operable por el trayecto de punción. La certeza diagnóstica se estima en torno al 88% para CVB, con tasa casi nula de falsos positivos.(13)

El examen citológico de la vía biliar es uno de los métodos usados para evitar la agresión directa al tumor y la posible diseminación.

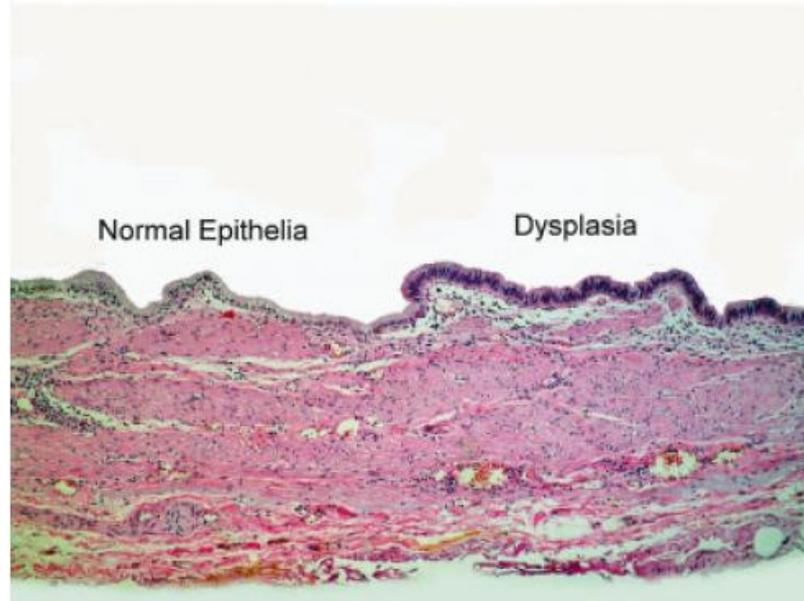
## **LESIONES PREMALIGNAS**

### **DISPLASIAS**

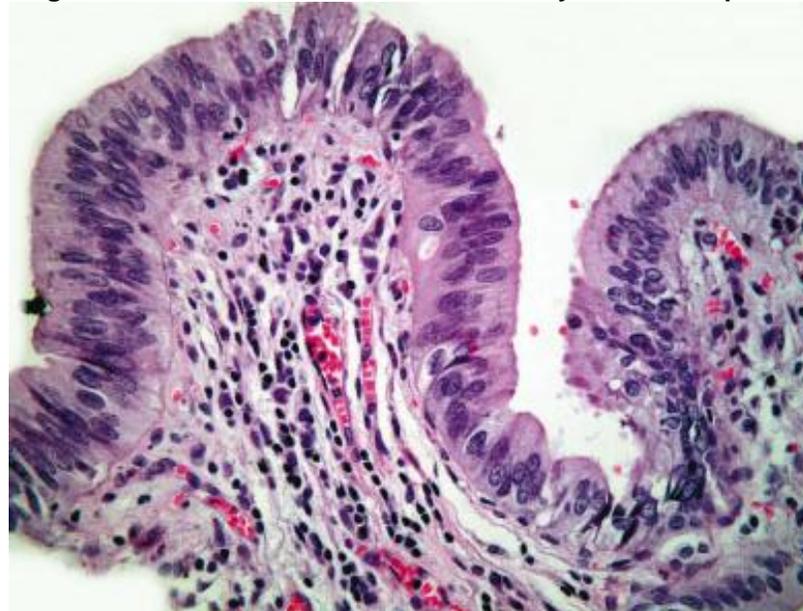
Actualmente está bien aceptado que existe una progresión de metaplasia (que puede ser de tipo pilórica o gástrica) a displasia y a carcinoma in situ y posteriormente el desarrollo de adenocarcinoma invasor sin que se conozcan aún los factores genéticos que provocan esta secuencia.

Tanto la displasia como el carcinoma in situ se consideran por diferentes autores como lesiones premalignas (9).

La displasia en la vesícula biliar se define como un cambio en la maduración del epitelio glandular con pseudoestratificación nuclear, un incremento de la relación núcleo-citoplasma, pérdida de la polaridad, irregularidad nuclear, hiperchromasia y la presencia de mitosis atípicas (20). (Figuras 3 y 4)



**Figura 3. Transición entre mucosa normal y zona de displasia**



**Figura 4. Zona de displasia que muestra estratificación nuclear**

## CARCINOMA IN SITU

Se observa histológicamente marcado plemorfismo , anisocariosis y atipia que no rebasa la membrana basal y no tiene infiltración en el tejido conectivo circundante y puede ser de tipo papilar o plano (20). (Figura 5 y 6 )

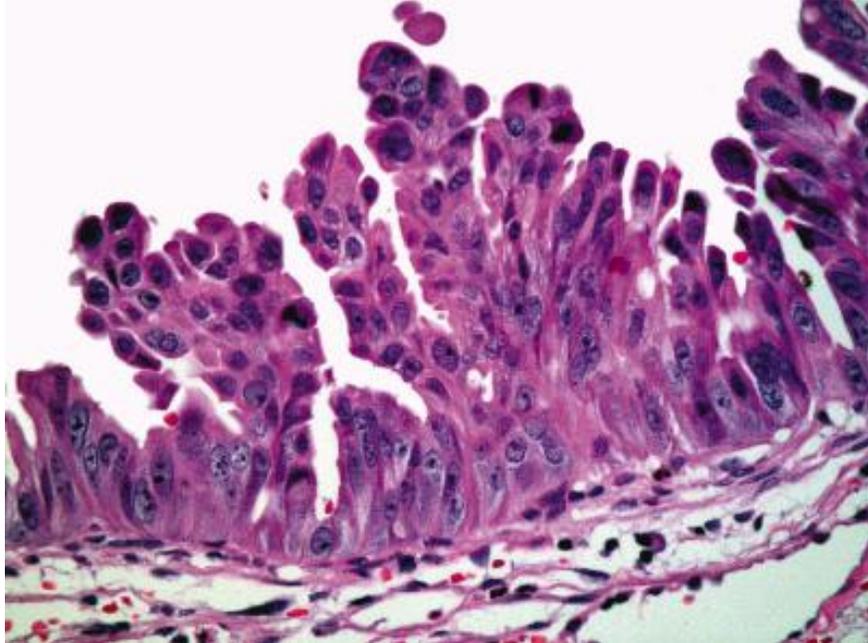


Figura 5. Se observa crecimiento papilar con estratificación y tamaño variable de los núcleos

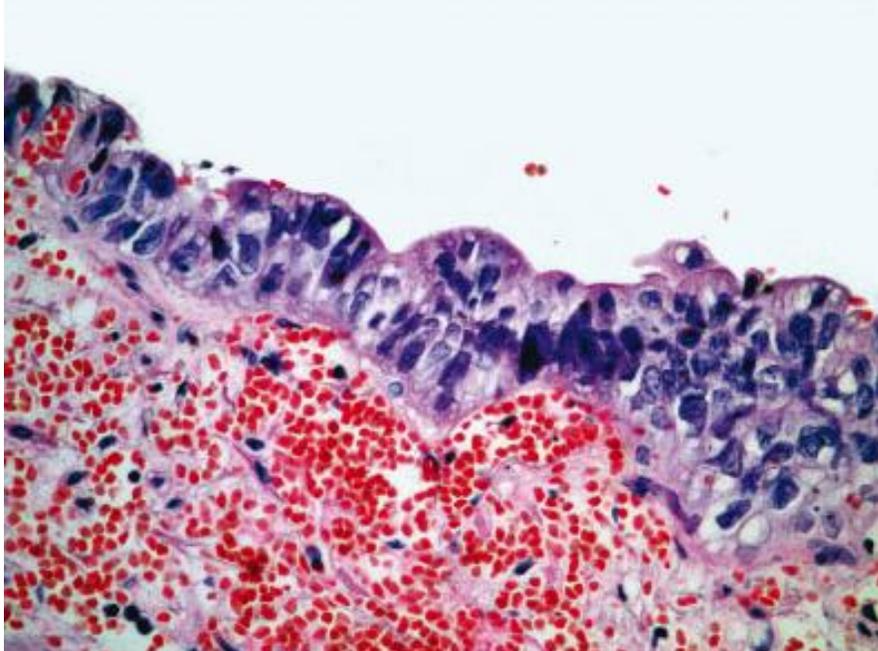


Figura 6. Carcinoma in situ plano con importante estratificación nuclear y mitosis anormales

## CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DEL CARCINOMA

La mayoría de de las neoplasias malignas de la vesícula biliar corresponden a adenocarcinomas, 60% se encuentran en fondo, 30% en cuerpo y 10% en cuello.

Macroscópicamente aparecen como placas sobre la mucosa, con indentaciones y áreas de engrosamiento pueden se pólipos o grandes masas de aspecto fungiforme. (11)

Microscópicamente el adenocarinoma de vesícula biliar es semejante a los encontrados en otras partes del cuerpo. La mayoría se componen de glándulas tubulares delineadas por epitelio pseudoestratificado , con células cuboidales o columnares, Los núcleos son pleomórficos con un nucléolo prominente. Se observan múltiples Figuras mitóticas y ocasionalmente células bizarras.

La mucina es usualmente encontrada dentro de las células y en la luz de las glándulas.(11) (fig. 7)

Es posible encontrar células de Paneth, caliciformes y ocasionalmente células endocrinas en una tercer parte de los tumores.

Los adenocarcinomas se dividen en bien diferenciado que asemeja el epitelio biliar y que está compuesto de 95% de glándulas bien formadas, moderadamente diferenciado ente 40 y 95% y poro diferenciado si es el porcentaje es menor al 40%.

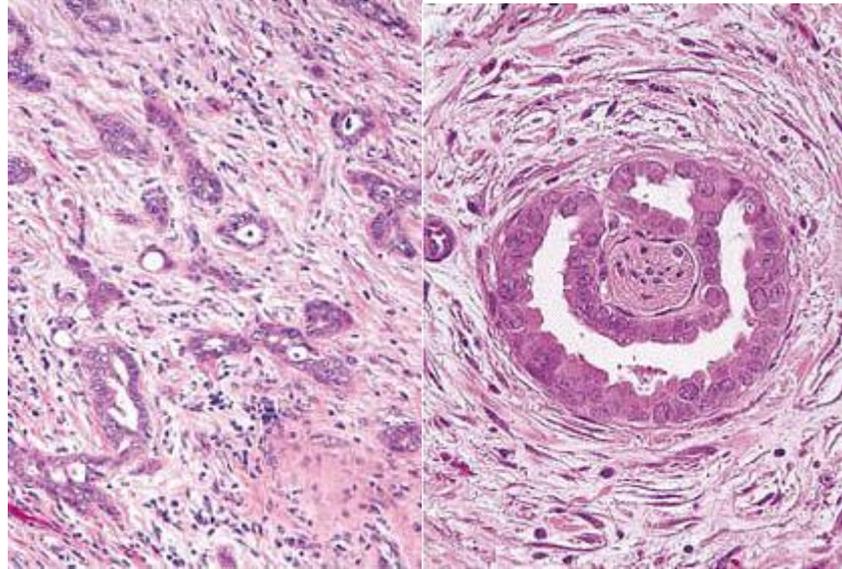
Los tumores poco diferenciados se componen de nidos, trabéculas o cordones de células neoplásicas en un estroma desmoplásico.

En las variantes mucinosas los lagos de mucina afectan el tejido subserosos y el material mucoso dilata las glándulas.

La positividad para mucina puede ser demostrada con la tinción de PAS, mucicarmín o Azul Alciano (11).

Inmunohistoquímicamente las células son positivas para pancitoqueratinas y citoqueratina 7 y pueden mostrar inmunoreacción positiva focalpara CK20. Otros marcadores inmunohistoquímicos incluyen CA19-9, antígeno carcinoembrionasia y antígeno epitelial de membrana. (20)

Si existe metaplasia de tipo pilórico es frecuentemente positiva para citoqueratina 20.

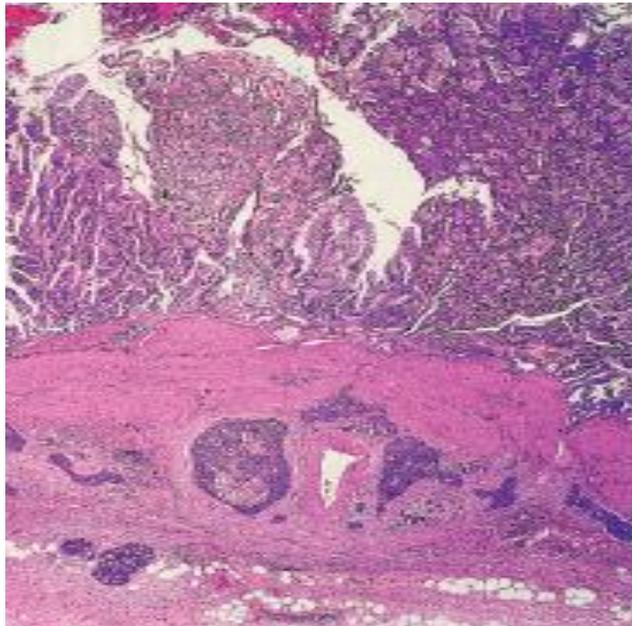


**Figura 7**

**SUBTIPOS HISTOLÓGICOS**

**Adenocarcinoma papilar**

Es un tipo de adenocarcinoma bien diferenciado compuesto por estructuras vellosas o papilares que usualmente hacen racimos con un epitelio con atipia importante y que presentan un tallo fibrovascular pequeño o pueden no tenerlo. (11)(Fig. 8)

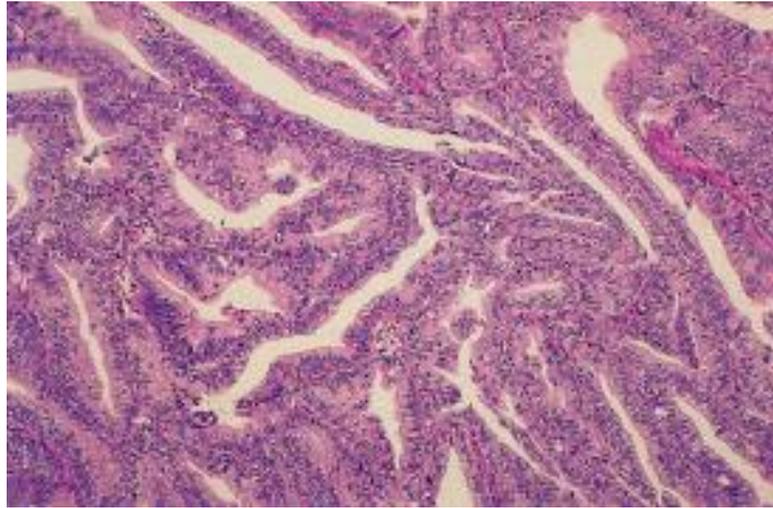


**Figura 8 Adenoarcinoma de tipo papilar**

**ADENOCARCINOMA DE TIPO INTESTINAL**

Esta variante de adenocarcinoma bien diferenciado presenta glándulas tubulares delineadas por epitelio alto con abundantes células caliciformes y ocasionales células de Paneth, con algunas células endocrinas,

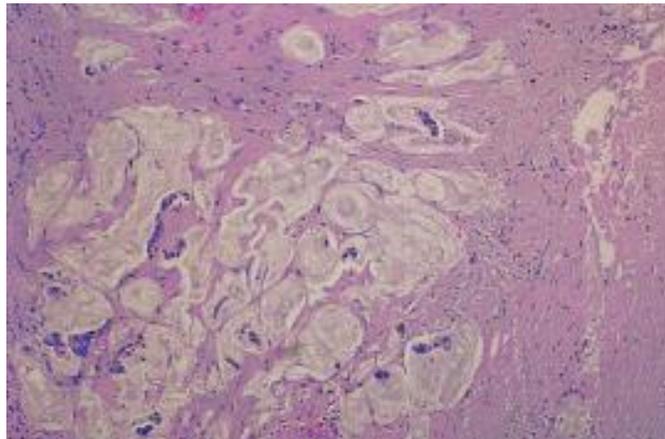
Las células endocrinas se presentan en un 30% en este tipo de tumores, Las células columnares presentan núcleos hipercromáticos, basales y se pueden ver pseudoestratificadas. El citoplasma se encuentra agrandado por la presencia de mucina. (11)



**Figura 9. Adenocarcinoma de tipo intestinal**

El carcinoma mucinoso se define por aquel que presenta más de un 50% de mucinas extracelulares. Usualmente se observa como una masa gelatinosa en la pared de la vesícula biliar.

Este tumor se encuentra en 2 variantes, lagos de mucina con células tumorales flotando en el centro o los mismos lagos delineados por células tumorales. Un estroma fibroso rodea los lagos de mucina. Ocasionalmente se puede observar adenocarcinoma bien diferenciado adyacente. (11)



**Figura 10. Adenocarcinoma de tipo mucinoso**

Otros tipos menos frecuentes incluyen el de células claras y el de tipo gástrico.

## ESTADIFICACIÓN

### *Sistema de estadificación de Nevin (modificado por Donohue, 1990)*

Fue publicada por primera vez por Nevin en 1976, siendo modificada en 1990 por Donohue, y clasifica a los pacientes en 5 estadios basados en el grosor y la profundidad de la invasión parietal. El problema de la revisión ya modificada es que ubica en el mismo estadio (Nevin 3) a aquellos tumores con infiltración hepática por contigüidad menor (< 2 cm) y mayor (> 2 cm), variable que se ha demostrado de importancia pronóstica.(18)

Nevin 1	Carcinoma limitado a la mucosa	Carcinoma in situ
Nevin 2	Limitado a capa muscular	Invasión mucosa /muscular
Nevin 3	Limitado a capa subserosa Ñ(no infiltra hígado)	Infiltración hepática contigua
Nevin 4	Afección ganglio cístico	Afección ganglionar
Nevin 5	Infiltración hepática directa o metástasis a distancia	Metástasis hepáticas a otros órganos

### *Sistema de estadificación TNM (revisión del AJCC, 1997)*

Está universalmente aceptada y es de gran utilidad para el estudio comparativo entre las series de distintos grupos, siendo hoy día la clasificación estándar de estadificación para el carcinoma de vesícula biliar . Al igual que todas las TNM, se refiere al grado de infiltración parietal del tumor primario (T), a la presencia y localización de los ganglios linfáticos regionales y a la presencia o no de metástasis a distancia.(18)

<b>Tx</b>	El tumor primario no puede ser evaluado
<b>T0</b>	No existe evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Cáncer <i>in situ</i>
<b>T</b>	
T1a	Tumor con invasión mucosa
T1b	Tumor invade la túnica muscular
T2	Tumor con invasión de la túnica subserosa
T3	Tumor con invasión de la serosa u otro órgano (Invasión hepática menor a 2 cm)
T4	Tumor con invasión del hígado mayor a 2 cm o a 2 órganos adyacentes

<b>N</b>	
N0	No hay metástasis
Nx	No pueden ser evaluados los ganglios
N1	Metástasis en ganglios: cístico , peticoledociano y/o del hilio hepático
N2	Metástasis en ganglios: cefalopancreaticos anteriores y posteriores, periduodenales, periportales, celiacos y/o de la arteria mesentérica superior
<b>M</b>	
Mx	No se puede valorar la presencia de metástasis a distancia
M1	No existen metástasis a distancia
M2	Metástasis a distancia

*Otras clasificaciones*

Otros sistemas de estadificación de menor impacto son:

- Clasificación japonesa JBSS de Onoyama (1995)
- Clasificación de Barlett (1996).

## JUSTIFICACIÓN

El cáncer de la vesícula biliar es una de las neoplasias más frecuentes en países como Chile, Japón y México. Esta entidad es más frecuente en mujeres, y alrededor del 90% son diagnosticados después de los 50 años. El adenocarcinoma constituye el tipo más frecuente y usualmente es diagnosticado en estadios avanzados de la enfermedad.

La mayoría de los casos son diagnosticados como incidentales posteriores a colecistectomía por otras causas, principalmente colecistitis crónica.

El presente estudio ayudará a conocer la incidencia de lesiones premalignas asociadas al adenocarcinoma de vesícula biliar en nuestra población, ya que actualmente es conocida su asociación con la secuencia desde metaplasia hasta el desarrollo de carcinoma. Adicionalmente ayudará a conocer que el marcador de proliferación celular p53 se expresa progresivamente con una intensidad mayor de acuerdo al grado histológico de la lesión en el adenocarcinoma de la vesícula biliar.

Contribuirá a conocer el estado actual de la incidencia del carcinoma de vesícula biliar en el Hospital de la Especialidades del Centro Médico Nacional siendo esta una patología considerada por la literatura mundial como endémica en México.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se encuentran lesiones displásicas asociadas al carcinoma de vesícula biliar y estas expresan el marcador de proliferación celular p53 en menor medida que el encontrado en el adenocarcinoma de vesícula biliar.

## HIPOTESIS

Se encuentran lesiones de displasia de alto grado asociadas al adenocarcinoma de vesícula biliar y estas expresan el marcador de proliferación celular p53 en una intensidad igual o menor al encontrado en el adenocarcinoma.

## OBJETIVOS

- Describir las lesiones displásicas asociadas a los adenocarcinomas de vesícula biliar en nuestro hospital.
- Determinar la positividad para p53 en las lesiones displásicas en los adenocarcinomas de vesícula biliar.
- Definir las lesiones displásicas o metaplásicas asociadas a los adenocarcinomas de vesícula biliar en nuestro hospital.
- Determinar la frecuencia del adenocarcinoma de vesícula biliar en los últimos 10 años.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Diseño del estudio:** Longitudinal, retrospectivo, observacional y descriptivo.

**Universo de trabajo:** Archivo de Patología de los años 2000-2009 del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**Selección de la muestra:** Todos los casos diagnosticados como adenocarcinoma de vesícula biliar, displasia de alto grado, displasia de bajo grado y metaplasia.

### **Criterios de selección:**

Criterios de inclusión:

- Casos diagnosticados como adenocarcinoma de vesícula biliar.
- Casos en el periodo de enero de 2000 a diciembre de 2008.
- Casos en los que se cuente con laminillas y bloques de parafina.

Criterios de no inclusión:

- Casos con los que no se contara con laminillas o bloques.
- Adenocarcinomas no primarios de vesícula biliar.

Criterios de exclusión:

- Casos en los que se reconsidere el diagnóstico hacia no neoplásico.
- No exista en los bloques suficiente tejido para la realización de inmunohistoquímica.

## **Procedimientos**

Se buscó en los registros del archivo de patología en el periodo de Enero de 2008 a Octubre de 2009 el estudio de especímenes de vesícula biliar con cualquier diagnóstico.

De cada caso se obtuvieron las laminillas, las cuales fueron reanalizadas para confirmación del diagnóstico, en promedio 3 laminillas por paciente. Se obtuvieron los bloques de parafina y se realizó por el histotecnólogo tinción de PAS a todos ellos.

Adicionalmente el histotecnólogo de inmunohistoquímica realizó con el material de los bloques de parafina el marcador p53.

Se diagnosticó como adenocarcinoma de vesícula biliar a aquellas lesiones en las que existían células atípicas formando glándulas.

La displasia en vesícula biliar se definió como un cambio en la maduración del epitelio glandular con pseudoestratificación nuclear, un incremento de la relación núcleo-citoplasma, pérdida de la polaridad, irregularidad nuclear, hiper cromasia y la presencia de mitosis atípicas.

Se diagnosticó como carcinoma in situ cuando se observó histológicamente marcado pleomorfismo, anisocariosis y atipia que no rebasa la membrana basal y no tiene infiltración en el tejido conectivo circundante y puede ser de tipo papilar o plano.

La presencia de p53 se determinó mediante técnicas de inmunoperoxidasa. Para conocer la inmunoeexpresión del p53 se empleó el anticuerpo monoclonal de ratón, clona D0-7 (DAKO).

Se consideró como expresión positiva a la tinción nuclear. La intensidad se evaluó en escala de: + o débil, ++ moderada, y +++ intensa. Como control positivo de p53 se empleó la tinción de células epiteliales tumorales de cánceres de colon, de casos reiteradamente positivos. La medición de los casos se realizó en la laminilla con la mayor positividad y fue clasificada en base a la intensidad y porcentaje de positividad de las células tumorales.

Para fines de este estudio se consideró como positiva la tinción nuclear de p53 en aquellos casos en que al menos 50% de las células mostraron positividad nuclear intensa.

## RECURSOS PARA EL ESTUDIO

### Recursos materiales:

Reactivos para la realización de la tinción de PAS.

Laminillas y cubreobjetos.

Microscopio de doble cabeza.

Marcador de inmunohistoquímica para p53 (Dako).

### Recursos humanos:

Residente de tercer año de anatomía patológica.

Patólogo adscrito al departamento de anatomía patológica.

Histotecnólogo para los cortes y tinciones de rutina.

Histotecnólogo especialista en inmunohistoquímica.

## RESULTADOS

Se llevó a cabo un análisis retrospectivo de los casos diagnosticados como carcinoma de vesícula biliar entre enero de 2000 a diciembre de 2008, se encontraron 2034 reportes de patología de vesícula biliar de los cuales fueron diagnosticados 20 como neoplasias malignas, enumerados por año en la siguiente tabla

Número de casos reportados por carcinoma de vesícula biliar de acuerdo al año de estudio

Año	Número quirúrgicos totales	de Vesículas estudiadas	Número de casos carcinoma
2000	6725	150	1
2001	6306	162	0
2002	6312	145	2
2003	6218	184	2
2004	6162	193	2
2005	6045	174	6
2006	6740	175	4
2007	6832	180	1
2008	6340	167	2

De estos 20 casos neoplásicos se eliminaron 7 por no contar con los bloques de parafina para la realización de la inmunohistoquímica o las laminillas para su revisión.

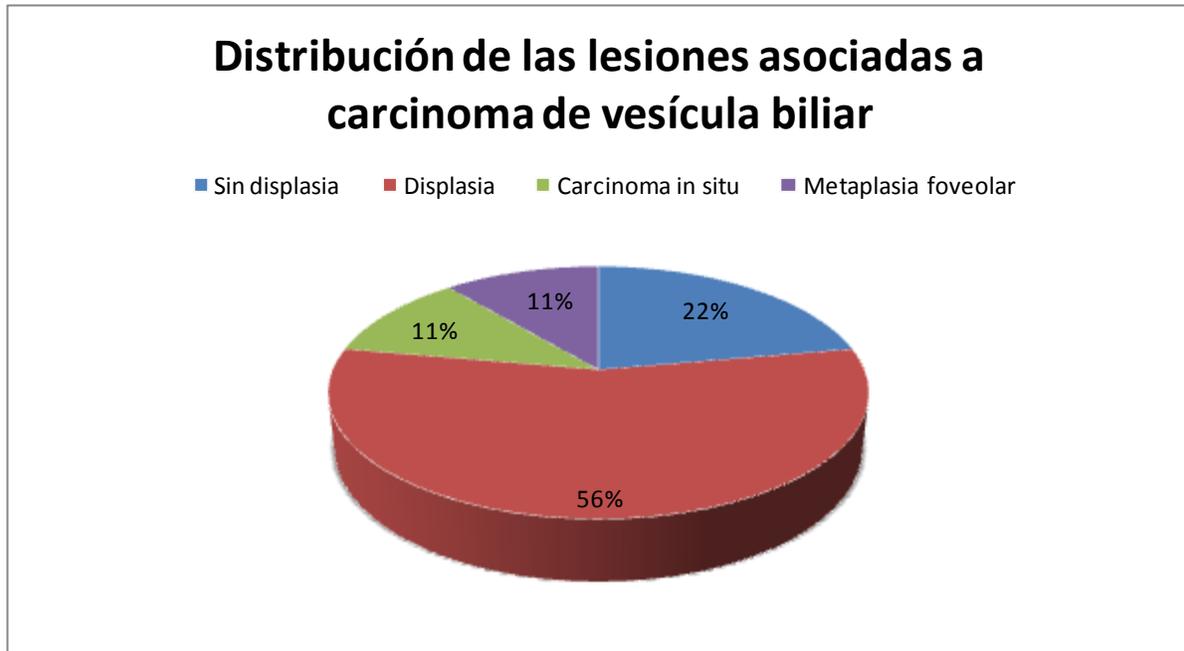
De los 13 casos restantes se eliminaron 4 por no tratarse de carcinomas primarios de vesícula biliar. Los cuales se resumen en la siguiente tabla:

Caso	Diagnóstico inicial	Diagnóstico de revisión
B00-4262	Adenocarcinoma de vesícula biliar	Adenocarcinoma de conductos biliares extrahepáticos con extensión a la vesícula biliar.
B03-6209	Adenocarcinoma de vesícula biliar	Adenocarcinoma de conductos biliares extrahepáticos con extensión a la vesícula biliar.
B05-363	Adenocarcinoma de vesícula biliar	Colecistitis crónica con datos regenerativos
B08-443	Adenocarcinoma de vesícula biliar	Colecistitis crónica con datos regenerativos

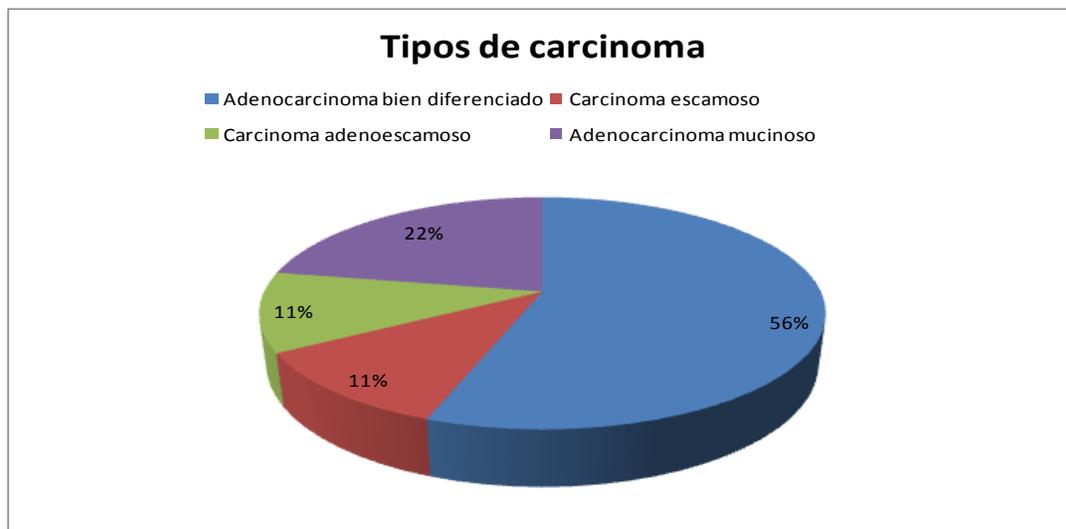
Se encontraron lesiones displásicas asociadas en los 7 de los 9 casos estudiados, 5 de los cuales correspondieron a displasia y 1 a carcinoma in situ.

<b>Caso</b>	<b>Folio</b>	<b>Diagnóstico</b>	<b>Lesión asociada</b>
1	B-04-2966	Adenocarcinoma mucinoso	Ninguna
2	B-05-363	Adenocarcinoma bien diferenciado	Displasia
3	B-05-3692	Carcinoma escamoso	Displasia
4	B-05-4472	Adenocarcinoma mucinoso	Ninguna
5	B-05-5735	Adenocarcinoma tipo papilar	Metaplasia foveolar Displasia
6	B-06-1783	Adenocarcinoma tipo intestina	Adenocarcinoma in situ
7	B-06-1872	Carcinoma adenoescamoso	Displasia
8	B-07-2326	Adenocarcinoma tipo intestinal	Displasia
9	B-08-5316	Adenocarcinoma tipo intestinal	Displasia

Las neoplasias malignas en las que no se encontró lesión premaligna asociada correspondieron a adenocarcinoma de tipo mucinoso. Los diagnósticos principales y las lesiones asociadas se enumeran en la siguiente tabla. Las frecuencias se sintetizan en las gráficas 1 y 3



**Gráfico 1**



**Gráfico 2**

## EXPRESIÓN DE P53

Se observó expresión del marcador con positividad moderada a intensa en las lesiones displásicas en más del 50% de las células en las áreas de displasia y mayor de 80% en las áreas de adenocarcinoma de tipo convencional.

No observó positividad en las células sobrenadantes en adenocarcinoma mucinoso, ni en los carcinomas con componente escamoso.

Se enumeró las lesiones de acuerdo a su porcentaje de positividad e intensidad y el promedio se resumen en la siguiente tabla.

Caso	Folio	Diagnóstico	Porcentaje de positividad	Intensidad
	B-04-2966	Adenocarcinoma mucinoso	0%	No
	B-05-363	Adenocarcinoma diferenciado	bien 85%	Intensa
		Displasia	50%	Intensa
	B-05-3692	Carcinoma escamoso	0%	Intensa
		Displasia	40%	Intensa
	B-05-4472	Adenocarcinoma mucinoso	0%	No
	B-05-5735	Adenocarcinoma tipo papilar	90%	Intensa
		Metaplasia foveolar	0%	No
		Displasia	50%	Intensa
	B-06-1783	Adenocarcinoma diferenciado	bien 85%	Intensa
		Adenocarcinoma in situ	85%	Intensa
	B-06-1872	Carcinoma adenoescamoso	0%	Intensa
		Displasia	50%	Moderada
	B-07-2326	Adenocarcinoma diferenciado	bien 75%	Moderada
		Displasia	55%	Moderada
	B-08-5316	Adenocarcinoma diferenciado	bien 70%	Moderada
		Displasia	50%	Moderada

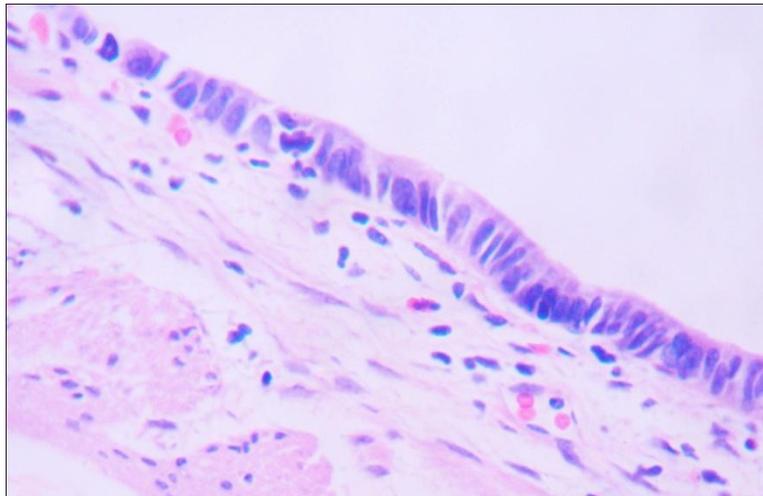
Se observó expresión del marcador p53 en la displasia en un promedio de 50% , en carcinoma in situ en 60% y en adenocarcina bien diferenciado 80%, con intensidad progresiva dependiendo el grado de la lesión.

Los Resultados se resumen en la siguiente tabla:

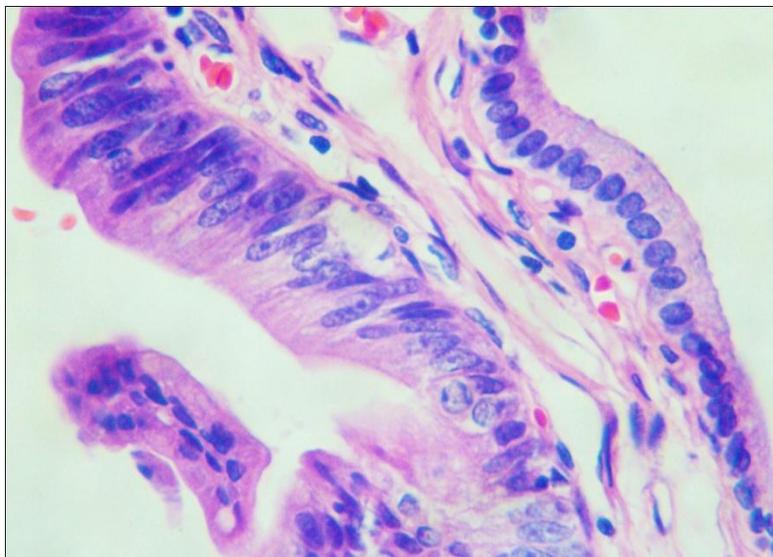
<b>Tipo de lesión</b>	<b>Grado de positividad al p53</b>	<b>Porcentaje de células positivas al p53</b>
<b>Adenocarcinoma bien diferenciado</b>	Intenso	80%
<b>Displasia</b>	Intenso	50%
<b>Carcinoma In situ</b>	Intenso	60%
<b>Carcinoma adenoescamoso</b>	Negativo	0%
<b>Carcinoma escamoso</b>	Negativo	0%
<b>Metaplasia foveolar</b>	Negativo	0%
<b>Tejido normal</b>	Negativo	0%

## FOTOS

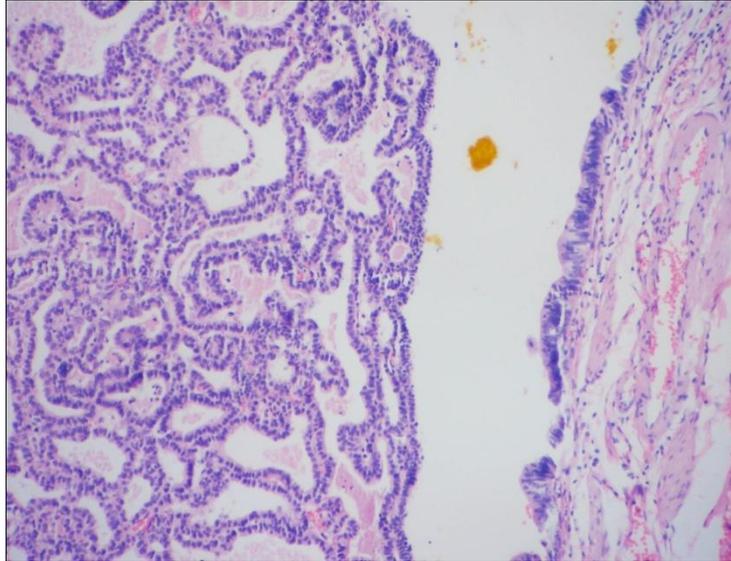
### CASOS DIAGNÓSTICOS COMO DISPLASIA



El caso B-05-363 muestra núcleos elongados hiper cromáticos y presencia de mitosis atípicas.

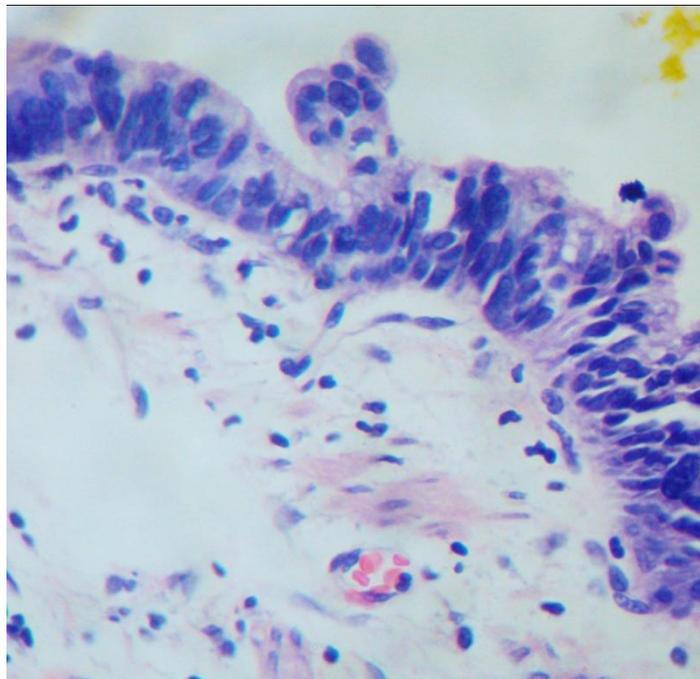


El caso B-07-2326 muestra epitelio superficial del lado derecho de características normales y en el lado izquierdo muestra transición a displasia con agrandamiento de los núcleos los cuales se observan elongados hiper cromáticos y algunos con presencia de nucléolo.



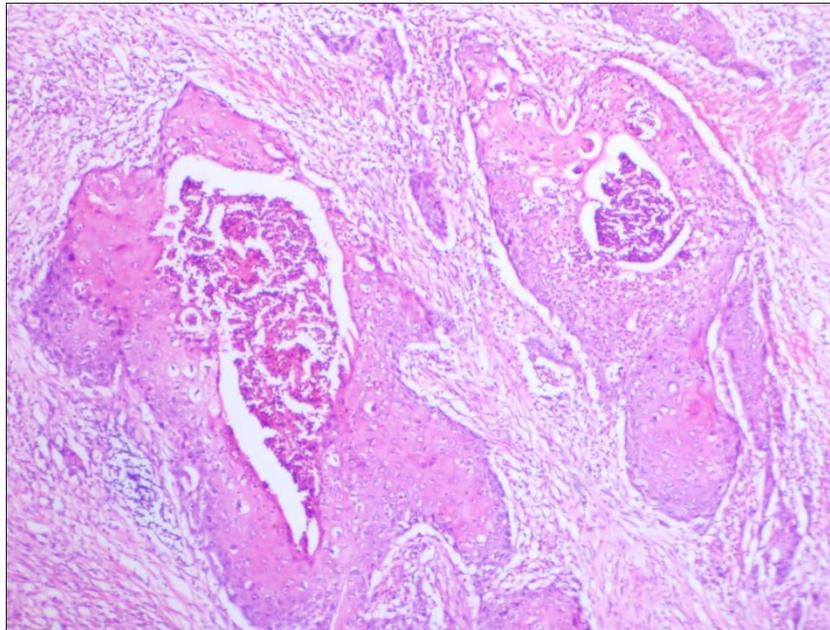
El caso B-08-5316 muestra un área displásica del lado derecho con núcleos elongados, hiper cromáticos la cual evolucionó a adenocarcinoma tipo convencional del lado izquierdo.

#### **CASO DIAGNOSTICADOS COMO CARCINOMA IN SITU**



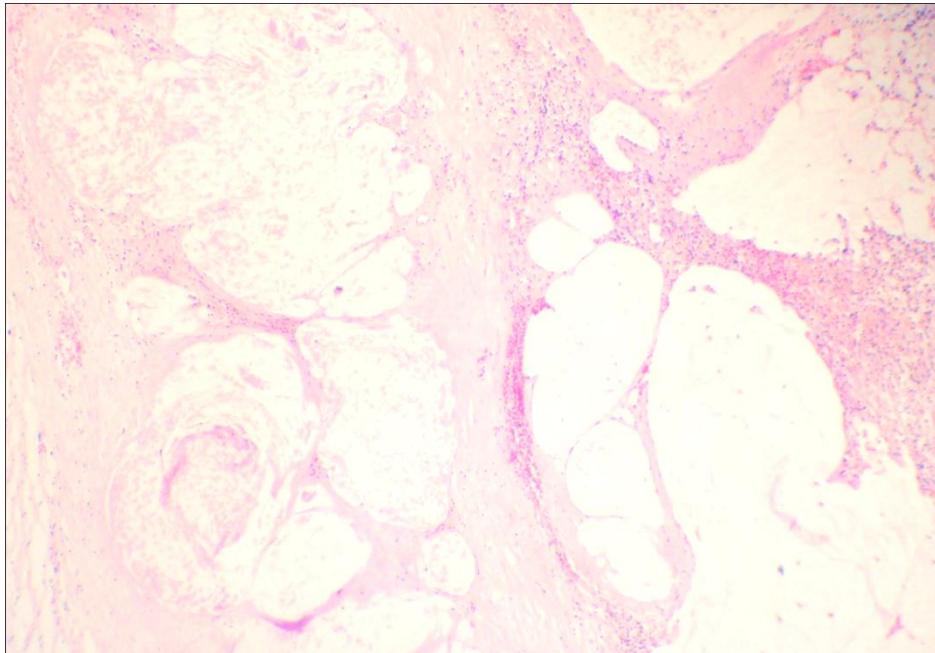
El caso B-06-1783 muestra marcado pleomorfismo, anisocariosis y atipia que no rebasa la membrana basal y no tiene infiltración en el tejido conectivo circundante de tipo plano con algunas proyecciones papilares.

## CARCINOMA ESCAMOSO



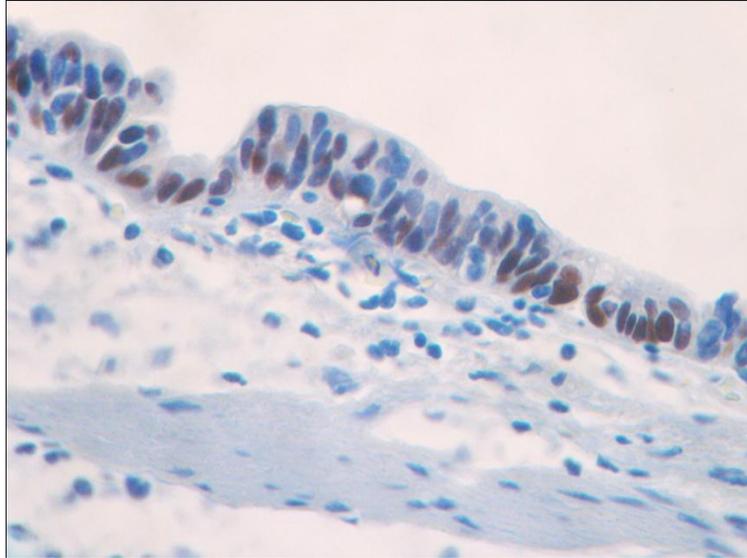
El caso B-05-3692 presenta epitelio escamoso displásicos en islas que infiltran el estroma hay áreas de comedo-necrosis central y desmoplasia del estroma circúndate.

## ADENOCARCINOMA MUCINOSO

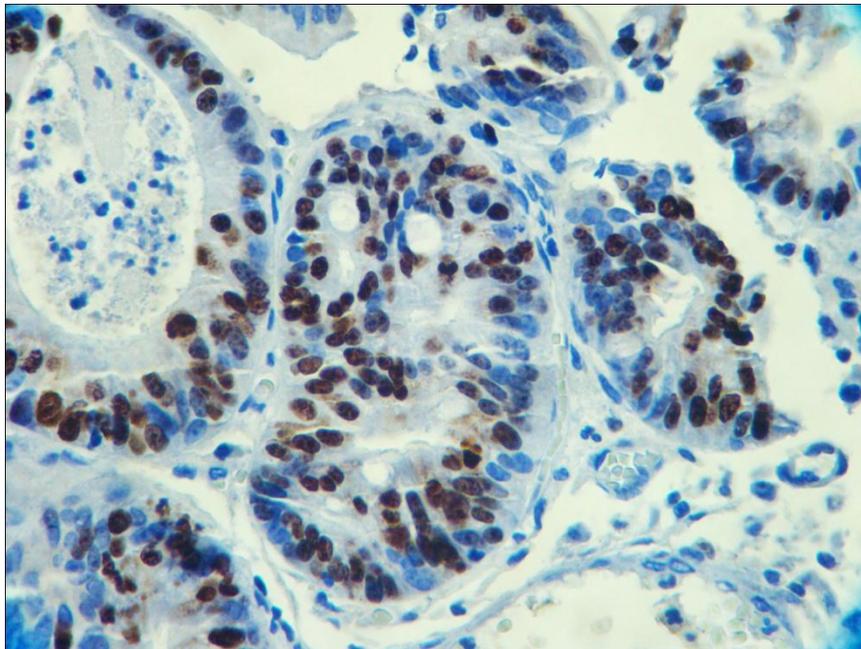


El caso B-04-2966 mostró áreas mucinosas en lagos que ocupaban hasta el 80% de la superficie tumoral con células malignas sobrenadantes.

## P53 EN LESIÓN DISPLÁSICA



Caso B-05-363 el cual muestra positividad intensa para p53 en aproximadamente 50% de las células de la lesión diagnosticada como displásica.



Caso B-07-2326 el cual muestra positividad intensa en al menos 70% de las células en el componente infiltrante del denocarcinoma.

## CONCLUSIONES

- La frecuencia de los diferentes tipos de adenocarcinoma en nuestra unidad es similar a lo reportado en la literatura con el tipo convencional bien diferenciado como el más frecuente.
- Es importante un análisis adecuado de todos los tejidos enviados para el estudio de las neoplasias malignas de vesícula biliar para identificar aquellas que son primarias del órgano y distinguirlas de la extensión de otras neoplasias de la vía biliar.
- Es posible encontrar lesiones premalignas en las neoplasias malignas de la vesícula biliar a excepción del carcinoma mucinoso.
- Existe correlación entre la displasia en vesícula biliar y la expresión intensa del marcador p53, la cual aumenta el porcentaje de positividad en su progresión a adenocarcinoma.
- Es posible identificar lesiones premalignas en las neoplasias malignas de vesícula biliar mediante microscopía de luz y corroborar el diagnóstico con la expresión del marcador p53.
- Es importante un adecuado muestreo de las lesiones de vesícula biliar para poder identificar las lesiones displásicas.
- Nuestro estudio fue limitado debido a la pérdida del material para su análisis adecuado y a la falta de información clínica con la que contábamos.
- Este estudio permitió identificar la prevalencia de los tipos de neoplasias malignas en vesícula biliar e identificar que hay concordancia con lo reportado en la literatura.

## REFERENCIAS

1. Roa-Esterio I, Guzmán-González P, Cáncer de la vesícula biliar en colecistectomías por litiasis, REV ESP PATOL 2004; Vol 37, n.º 3: pp. 279-285
2. Motoko; Yamato; et. Al. Expression of MUC2, MUC5AC and MUC6 apomucins in carcinoma, dysplasia and non-dysplastic epithelia of the gallbladder, International Pathology, Volume 49(1), January 1999, pp 38-44
3. Mayuko Takagawa, Naoki Muguruma, Prediction of Prognosis in Gallbladder Carcinoma by Mucin and p53 Immunohistochemistry, *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 50, No. 8 (August 2005), pp. 1410–1413
4. Harikleia Kalekou, Dimosthenis Miliaras, Immunohistochemical study of microvessel density, CD44 (standard form), p53 protein and c-erbB2 in gallbladder carcinoma, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* (2004) 19, 812–818
5. Arias Stella , Monge E., Inmunoexpresión de p53 y ciclina D1 en adenomas de vesícula biliar, REV ESP ENFERM DIG (Madrid) Vol. 99. N.º 12, , 2007, pp. 694-697
6. KUSHIMA, R.; LOHE, B.\*; BORCHARD, F., Differentiation towards gastric foveolar, mucopeptic and intestinal goblet cells in gallbladder adenocarcinomas, *Histopathology* Volume 29(5), November 1996, pp 443-448
7. Albores-Saavedra J, Nadji M, Henson DE. Intestinal type adenocarcinoma of the gallbladder. A clinico-pathologic study of seven cases. *Am J Surg Pathol* 1986;10:19-25.
8. Kimura W, Muto T, Esaki Y. Incidence and pathogenesis of villous tumors of the gallbladder, and their relation to cancer. *J Gastroenterol* 1994;29:1-4.
9. Kozuka S, Tsubone N, Yasui A, Hachisuka K. Relation of adenoma to carcinoma of the gallbladder. *Cancer* 1982;50:2226-34.
10. Kimura K, Ohto M, Saisho H. Association of gallbladder carcinoma and anomalous pancreato-biliary union. *Gastroenterology* 1995; 89:1258-65.
11. Albores-Saavedra J, Henson DE. Tumors of the gallbladder and extrahepatic ducts. En: *Atlas of tumor pathology, series 2, fascicle 22*. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1996.

12. Tsukada K, Kurosaki I, Uchida K, Shirai Y, Oohashi Y, Yokoyama K, et al. Lymph node spread from carcinoma of the gallbladder. *Cancer* 1997;80:661-7.
- Strom BL, Maislin G, West SL, Atkinson B, Herlyn M, Saul S, Rodríguez
13. Ritts RE, Nagorney DM, Jacobson DJ, Talbot RW, Zurawski VR Jr. Comparison of preoperative serum CA19-9 levels with results of diagnostic imaging modalities in patients undergoing laparotomy for suspected pancreatic or gallbladder disease? *Pancreas* 1999; 9:707-16.
14. Chijiwa K, Sumiyoshi K, Nakayama F. Impact of recent advances in hepatobiliary imaging techniques on the preoperative diagnosis of carcinoma of the gallbladder. *World J Surg* 1991;15: 322-7.
15. Gress F, Ikemberry S, Sherman S, Wonn J, Lehman G. A prospective comparison of endoscopic ultrasound (EUS) versus spiral computed tomography (SCT) for pancreatic, biliary and ampullary cancer staging and determination of vascular invasion and resectability.
16. Shimada H, Endo T, Togo S, Nakano A, Izumi T, Nakagawara G. The role of lymph node dissection in the treatment of gallbladder carcinoma. *Cancer* 1997;79:892-9.
17. Chijiwa K, Yamaguchi K, Tanaka M. Clinicopathologic differences between long-term and short-term postoperative survivors with advanced gallbladder carcinoma. *World J Surg* 1997;21:98-102.
18. Chijiwa K, Noshiro H, Nakano K, Okido M, Sugitani A, Yamaguchi K, et al. Role of surgery for gallbladder carcinoma with special reference to lymph node metastasis and stage using Western and Japanese Classification Systems. *World J Surg* 2000;24:1271-7.
19. Kondo S, Nimura Y, Hayakawa N, Kamiya J, Nagino M, Uesaka K. Regional and para-aortic lymphadenectomy in radical surgery for advanced gallbladder carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:418-22.
20. Hidalgo Grau, Badia Josep, Admella , Camen, Gallbladder carcinoma: the role of p53 protein overexpression and Ki-67 antigen expression as prognostic markers, *HPB* , 2004;6 (3) 174-180.
21. Kim YW, Hush SH, Park YK, Expression of the c-erb-B2 and p53 protein in gallbladder carcinomas, *Oncol Rep* 2001, 8, 1127-32