



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SERVICIO DE GASTROENTEROLOGÍA

HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

TÍTULO

**Utilidad de la inmunohistoquímica para la identificación de sitio primario  
desconocido de metástasis hepáticas**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**ESPECIALISTA EN GASTROENTEROLOGÍA**

PRESENTA:

**DRA. ALEJANDRA ISABEL PÉREZ DELGADILLO**

**ASESOR DE TESIS: DR. RICARDO HUMBERTO RAÑA GARIBAY  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DR. MAURICIO DE ARIÑO SUÁREZ**

**CIUDAD DE MÉXICO, JULIO 2016.**



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.

**TUTOR DE TESIS**

**DR. RICARDO HUMBERTO RAÑA GARIBAY**

Adscrito Gastroenterología Hospital Español de México

**COTUTORES DE TESIS**

**DR. JUAN BETUEL IVEY MIRANDA.**

Asesor Metodológico

**DRA. SHARON LORENA HERRERA CIFUENTES**

Asesor Clínico

**DR. MAURICIO DE ARIÑO SUÁREZ**

Jefe del curso Gastroenterología

Hospital Español de México

## **Dedicatoria**

*A mis padres.*

*Por su amor y sacrificio para que logre mis sueños.*

## ÍNDICE DE TEMAS.

RESUMEN ESTRUCTURADO _____	6
MARCO TEÓRICO _____	8
Introducción _____	8
Metastásis: Teoría de “Implantación tumoral por siembra” _____	8
Metastásis hepáticas _____	9
Abordaje clínico _____	10
Estudios de gabinete _____	11
Marcadores tumorales _____	11
Características histopatológicas y perfil molecular _____	11
Microscopía de luz _____	12
Inmunohistoquímica _____	12
Queratinas _____	12
Queratinas 7 y 20 _____	13
Marcadores órgano específicos _____	15
Marcadores de tracto gastrointestinal _____	16
CDX2 _____	16
Villina _____	17
Marcadores de Carcinoma Hepatocelular _____	17
Anticuerpo Hep- Par1 (CPS1) _____	17
Arginasa-1. _____	17
Gliplcano-3 _____	18
Receptor de Estrógeno (RE) _____	18
GCDFP-15 y Mammoglobina A _____	18
Proteína GATA de unión 3 _____	18
Factor-1 de Transcripción Nuclear Tiroideo (TTF-1) _____	19
Napsina A. _____	19

Determinación de perfil molecular de tumores_____	19
MATERIAL Y MÉTODOS _____	20
Pregunta de investigación _____	20
Planteamiento del problema _____	20
Objetivos generales _____	20
Objetivos específicos _____	20
Hipótesis _____	21
Tipo y diseño de estudio _____	21
Definición operativa del estudio _____	21
Criterios de inclusión _____	21
Criterios de exclusión _____	21
Definición operativa de variables y unidades de medida _____	22
Procedimiento _____	22
Análisis estadístico _____	22
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS _____	24
DISCUSIÓN _____	31
CONCLUSIONES _____	32
BIBLIOGRAFÍA _____	33

## RESUMEN ESTRUCTURADO

**Antecedentes:** El hígado es un sitio frecuente de enfermedad metastásica, sin embargo, se conoce poco acerca de la frecuencia del sitio de origen de dichas metástasis hepáticas. Existen distintas hipótesis que explican la diseminación metastásica al hígado; en primer lugar, la hipótesis mecánica, en ésta, la irrigación sanguínea por la vena porta y la arteria hepática facilita el atrapamiento de células neoplásicas, la segunda teoría es aquella denominada “Implantación tumoral por siembra”, en la cuál, algunos tumores primarios selectivamente se dirigen al hígado como localización metastásica.

La inmunohistoquímica (IHQ) en los últimos años ha sido una poderosa herramienta diagnóstica que ayuda no sólo a diferenciar una neoplasia primaria de hígado de una lesión metastásica, sino que también provee información acerca del sitio de origen de las mismas.

**Objetivos:** Identificar el sitio de origen más frecuente de lesiones neoplásicas hepáticas, así como neoplasias de origen desconocido utilizando IHQ, en pacientes del Hospital Español de México con sospecha por estudio de imagen de metástasis hepáticas; así como la correlación clínico-patológica de los mismos.

**Material y métodos:** Estudio descriptivo, longitudinal, retrospectivo, en el periodo de tiempo comprendido de enero del 2010 a diciembre 2015 de pacientes del Hospital Español de México, se encontraron un total de 51 pacientes, de los cuales 41 cumplieron criterios de inclusión para su análisis: sospecha por estudio de imagen de lesión metastásica en hígado, biopsia hepática con análisis histopatológico e IHQ y expediente clínico completo.

**Resultados:** Se evaluaron 41 pacientes, 24 hombres y 17 mujeres de los cuales la edad promedio fue 62 años y 66 años, respectivamente. Los estudios de imagen para abordaje diagnóstico fueron ultrasonido abdominal 46% y/o tomografía abdominal en el 76%. El síntoma de presentación más frecuente fue el dolor abdominal (80%), seguido por pérdida de peso (54%) y fiebre (37%). En el caso de las metástasis, las neoplasias más frecuentes fueron: páncreas (24%), tubo digestivo (17%) y linfoma (10%). Las lesiones primarias de

hígado corresponden al 10%. Se utilizaron 53 diferentes marcadores de IHQ, los más utilizados fueron Citoqueratina 7, Citoqueratina 20, Citoqueratinas 8/18, TTF1 y Ki 67.

**Conclusión:** En lesiones hepáticas sospechosas de metástasis, el uso adecuado de un panel completo de inmunohistoquímica basado en la evaluación morfológica, historia clínica y estudios de imagen, tiene un porcentaje de identificación del sitio primario hasta en un 92.6% de los casos.



## **MARCO TEÓRICO**

### **Introducción**

El carcinoma de sitio primario desconocido (CPD) se define por un carcinoma metastásico confirmado histológicamente, en la ausencia de identificación primaria clínica, radiográfica y patológica.

Los sitios más frecuentes de involucro sistémico son: ganglios linfáticos, hígado, huesos y pulmones <sup>1</sup>. Se estima que aproximadamente el 4 % de los pacientes con cáncer se presentan como carcinomas de origen desconocido. Una revisión de doce estudios incluyeron el tracto pancreatobiliar, pulmón y riñones como los sitios más frecuentes de origen<sup>2</sup>. Aunque en los últimos años han existido mejoras en las técnicas diagnósticas y terapéuticas para los pacientes con cáncer, la metástasis es la causa de muerte en el 90% de estos enfermos<sup>3</sup>.

Pese a que se conoce al hígado como sitio frecuente de enfermedad metastásica, se sabe poco acerca de la frecuencia con la cual algunos tumores se presentan como metástasis hepáticas. La causa por la cual el hígado tiene tanta participación se ha explicado por diferentes hipótesis de diseminación metastásica. De acuerdo con la “hipótesis mecánica o hemodinámica” la irrigación sanguínea a través de la vena porta y arteria mesentérica facilita el atrapamiento de células neoplásicas <sup>4</sup>. Esto explica el por que la alta incidencia de metástasis hepática en carcinomas gastrointestinales. Sin embargo algunos tumores primarios selectivamente se “dirigen” al hígado por la teoría de “implantación tumoral por siembra”.

### **Metástasis: Teoría de “Implantación tumoral por siembra”.**

El tumor primario prolifera de manera continua y su adherencia a las células circundantes normales y neoplásicas disminuye. La falta de adherencia y el “escape” de las células malignas a la sangre y ganglios linfáticos es seguida por el atrapamiento a través los lechos capilares del tejido y salida a la circulación general.

Uno de los problemas principales, es el establecimiento de factores predictivos a cerca de los principales órganos afectados por metástasis. En 1889 el Dr. Paget realizó una

importante observación, los pacientes con cáncer de glándula mamaria tenían preferencia por metastatizar al hígado, percibiendo este hecho como inusual considerando que otros órganos como el bazo deberían de ser igualmente afectados debido a que reciben el mismo volúmen de sangre.

El establece la hipótesis de “Implantación tumoral por siembra” en la cual ciertas células tumorales “semilla”, colonizaban selectivamente algunos órganos distantes “tierra”, cuando un ambiente favorable facilita la supervivencia del tumor.

Es claro que la metástasis no se puede explicar simplemente por teorías anatómicas y mecánicas, como sería el atrapamiento de células tumorales o por un émbolo de células tumorales en el lecho vascular.

Durante los últimos años estudios biológicos han identificado interacciones moleculares entre el tumor “semilla” y el “ambiente estromal” los cuales rigen la especificidad del tumor por el tejido blanco para la implantación de metástasis. El descubrimiento de numerosos factores de crecimiento, citocinas, moléculas guías, vías de señalización y genes, proveen una nueva identidad para metástasis “órgano-específico”.

### **Metástasis hepáticas**

Las metástasis hepáticas representan la principal causa de muerte en pacientes con cáncer colorrectal, pancreático y hepatocelular. Con la llegada del análisis de expresión genética (*gene expression microarrays*) y el establecimiento de mejores modelos de estudio, se han añadido nuevos factores a la lista de genes responsables de la metástasis hepática. Los dos factores angiogénicos PDGFR-alfa y beta se han expresado en células pancreáticas y células endoteliales. La inhibición de PDGFR a través de anticuerpos monoclonales en combinación con gemcitabina, reduce el crecimiento tumoral e inhibe las metástasis hepáticas espontáneas, dándole al PDGFR relevancia en la evolución y progreso de las metástasis de cáncer pancreático. Un estudio publicado por Hugen N, et al, en 2014<sup>5</sup> demostró el desarrollo de metástasis hepáticas en el 32% - 73% de pacientes con cáncer colorrectal con diferencias significativas entre varios subtipos histológicos. La mayoría de las metástasis hepáticas son de origen colorrectal; sin embargo, la incidencia

de metástasis no colorrectales se desconoce <sup>6</sup>.

En general los pacientes con CPD tienen mal pronóstico, con supervivencia media de 8-11 meses. Clínicamente los pacientes se pueden dividir en categorías de acuerdo a los sitios presuntivos de origen primario. En los pacientes en los que se encuentra relación directa con el sitio probable, tienen un mejor pronóstico comparado con los pacientes en los cuales el sitio primario no se logra establecer. La identificación eficaz del sitio de CPD es crucial en la actualidad para el diseño de terapias blanco.

### **Abordaje clínico.**

#### **Estudios de gabinete.**

El uso de tomografía computarizada multicorte (TAC) con contraste, es el estudio inicial en el abordaje de estos pacientes, y en él se basan las recomendaciones de las guías clínicas del *“National Comprehensive Cancer Network y National Institute for Health y Clinical Excellence radiology guidelines for unknown primary cancer”* para pacientes con carcinoma desconocido.

Las técnicas invasoras tales como la broncoscopia, panendoscopia, colonoscopia, etc. deberán limitarse a pacientes sintomáticos en los cuales la sospecha por imagen o histopatología sean indicativas de un cáncer primario.

El uso de la tomografía por emisión de positrones (PET-CT) tiene una clara utilidad detectando el compromiso linfático cervical de primarios desconocidos, ya que ayuda a la identificación de un sitio adecuado para la toma de biopsia, determinar la extensión de la enfermedad, facilitar la planeación terapéutica con radiación y la vigilancia evolutiva. Moller et al<sup>7</sup>, encontraron una sensibilidad, especificidad y eficacia del 87%, 88%, y 88% respectivamente, para detectar metástasis ganglionares en cuello de pacientes con CPD; la toma de biopsias de los sitios seleccionados por el PET-CT, permitió la identificación del tumor primario (por inmunohistoquímica) en el 39% de los pacientes, siendo el pulmón el sitio más frecuente del origen de las metástasis.

### **Marcadores tumorales.**

Los marcadores tumorales generalmente no se consideran diagnósticos, excepto para el adenocarcinoma. Existe una gran variedad de marcadores tumorales por lo que es necesario un adecuado conocimiento de su sensibilidad y especificidad para su selección. Los niveles elevados de antígeno carcinoembrionario(ACE), antígeno CA-125, CA-19.9 y CA-27.29 no son específicos y no ayudan a identificar el origen del primario desconocido, ya que se pueden expresar en patologías benignas como son peritonitis, falla cardiaca y cualquier proceso inflamatorio intraabdominal, y su eficacia estará determinada por el nivel de corte. Por ejemplo en varones con lesiones osteoblásticas, es recomendable la determinación del APE ya que de acuerdo al nivel de corte (>10) puede detectar la presencia de adenocarcinoma de próstata. Al igual que los niveles elevados de la subunidad beta de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) y la alfa fetoproteína en hombres con carcinoma no diferenciado o pobremente diferenciado sugiere la posibilidad de un tumor extragonadal.

Pese a que los marcadores tumorales no son particularmente útiles en el diagnóstico específico del tumor primario, pueden ser de utilidad en el monitoreo de la respuesta al tratamiento.

### **Características histopatológicas y perfil molecular.**

#### **Consideraciones generales.**

En la mayoría de los pacientes con CPD los hallazgos histopatológicos hacen el diagnóstico definitivo, complementando la sospecha diagnóstica de los estudios de gabinete. Una muestra apropiada de tejido es esencial.

En la mayoría de los estudios clínico fase dos, el estudio CPD se limita a cánceres epiteliales; sin embargo, en la práctica se debe considerar en el diagnóstico diferencial tumores epiteliales y no epiteliales, cuando se aborda un cáncer no clasificado.

### **Microscopía de luz.**

La mayoría de los CPD incluyen adenocarcinomas bien y moderadamente diferenciados (60% de los pacientes), carcinomas o adenocarcinomas pobremente diferenciados (30%), neoplasias pobremente diferenciadas o no diferenciadas (5%), y carcinomas de células escamosas (5%).

### **Inmunohistoquímica**

El uso de la inmunohistoquímica (IHQ) en CPD está basada en la concordancia de la expresión de esta en las metástasis hepáticas y el primario desconocido. Los paneles seleccionados generalmente son anticuerpos conjugados con peroxidasa, que tienen la capacidad de sugerir o establecer la relación entre un CPD y las células de la metástasis; por ejemplo carcinoma, linfoma, sarcoma, melanoma etc.

La IHQ continua siendo el *“Gold standard”* en el diagnóstico de carcinomas de origen primario desconocido. Tiene relativamente un menor costo comparado con otras técnicas como estudios de imagen avanzada y análisis genético molecular.

Una nueva batería de marcadores IHQ ha surgido en la última década, la mayoría dirigida contra factores de transcripción específica, los cuales han mejorado su especificidad para determinar el tumor primario comparado con anticuerpos que reconocen queratinas y otros antígenos de membrana o citoplasmáticos.

En general existen dos clases de anticuerpos que son una herramienta útil en el abordaje diagnóstico de carcinomas de origen desconocido: anticuerpos órgano específicos por ejemplo el TTF-1, PSA, tiroglobulinas y proteína surfactante tipo A.

### **Queratinas**

Las queratinas, previamente denominadas citoqueratinas, han tenido un cambio en la nomenclatura debido al descubrimiento secuencial del genoma humano [actualmente se conocen 54 genes funcionales]<sup>8</sup>. Estas pertenecen a las familias de proteínas de filamentos intermedios.

- Queratinas (K) de bajo peso molecular vs queratinas de alto peso molecular-

Las queratinas de bajo peso molecular (p.ej. Queratina [K] 8,18) son expresadas por el epitelio “simple” (epitelio glandular del tracto digestivo) y los hepatocitos, entre otros, en cambio las queratinas de alto peso molecular (p. ej. K5, K14, K17) son expresadas por el epitelio “complejo” (escamoso o de transición). Por lo tanto, los anticuerpos dirigidos en contra de queratinas de bajo peso molecular son más útiles para apoyar el diagnóstico de adenocarcinoma y carcinoma hepatocelular (HCC), mientras que aquellos dirigidos en contra de queratinas de alto peso molecular son útiles para diagnosticar carcinomas de células escamosas y carcinoma urotelial.

### **Queratina 7 y 20 (K7, K20)**

La K7 y K20 tienen una distribución característica en el epitelio normal. La K7 se distribuye en epitelio simple principalmente en neumocitos y epitelio acinar de la mama; la K20 se expresa específicamente en el tracto gastrointestinal, especialmente en el colon recto, urotelio y epidermis.

Como regla general los adenocarcinomas gástricos manifiestan un inmunofenotipo K7<sup>+</sup>/K20<sup>+</sup> al igual que los carcinomas pancreáticos; en cambio, el cáncer colorrectal expresa K7<sup>-</sup>/K20<sup>+</sup>. En la tabla 1 se muestran los perfiles de varios carcinomas primarios con expresión K7 y K20.

<b>Tabla 1 Perfiles más frecuentes K7 K20</b>	
<b>k7<sup>+</sup>/k20<sup>-</sup></b>	Glándula mamaria Ovario Pulmón (Adenocarcinoma) Endometrio Tiroides

<b>K7<sup>+</sup>/K20<sup>+</sup></b>	Tracto gastrointestinal superior (adenocarcinoma) Páncreas (ductal) Urotelial
<b>K7<sup>-</sup>/K20<sup>+</sup></b>	Colorrectal Células de Merkel
<b>K7<sup>-</sup>/K20<sup>-</sup></b>	Próstata Hepatocelular Células renales Adrenal cortical

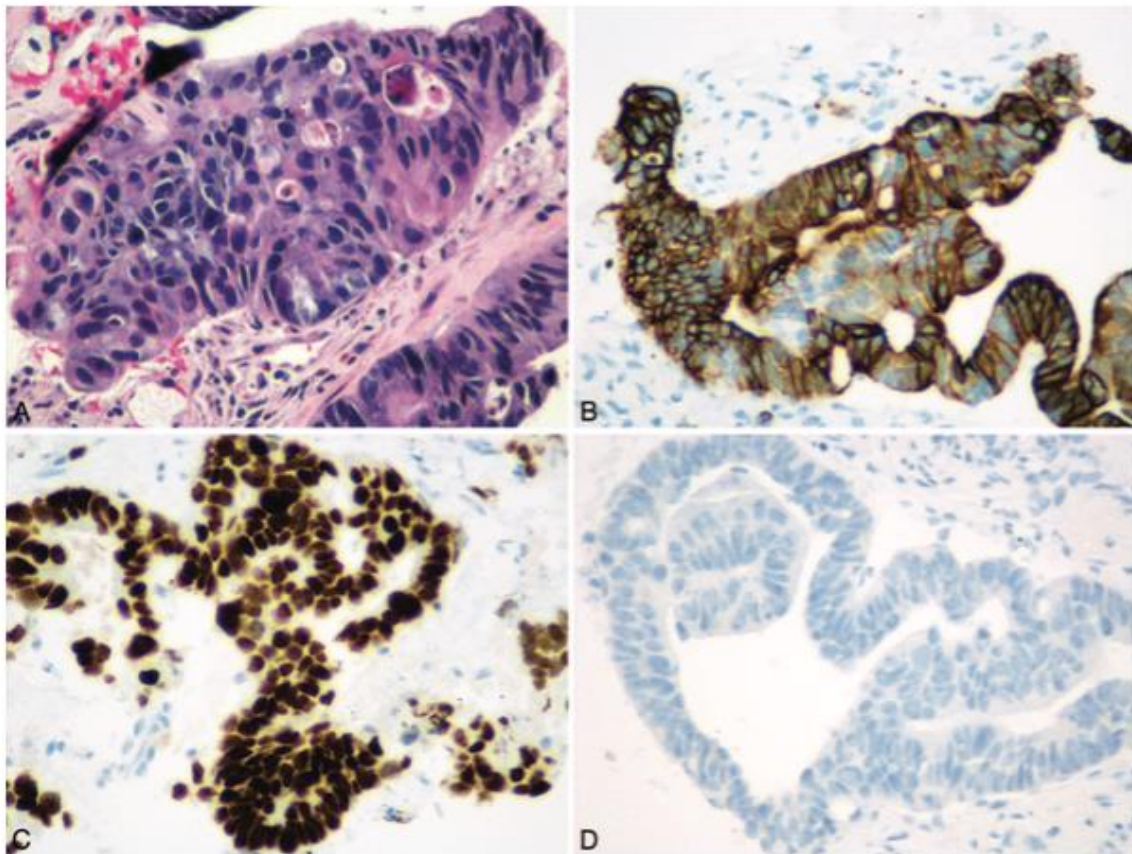


Figure 1. Metastatic adenocarcinoma from rectosigmoid colon (A), Keratin 20<sup>+++</sup> (B), CDX2<sup>+++</sup> (C), TTF-1<sup>-</sup> (D). Not shown: negative keratin 7 and napsin A. Note: <sup>+++</sup> equals >75% cells positive (hematoxylin-eosin, original magnification X40 [A]; original magnifications X40 [B through D]).

Imagen 1: Modificado de: Kandalajt et al. Carcinomas de sitio primario desconocido. Ejemplos de inmunohistoquímica en metastásis de cáncer colorectal. Arch Pathol Med 2015-0171

### Marcadores órgano específicos.

Existen anticuerpos específicos para tumores: marcadores de diferenciación citoplasmático y marcadores de diferenciación, factores nucleares de transcripción como GCDFP-15 y marcadores membranosos, como el marcador restringido a tracto gastrointestinal: **villina**. Las proteínas citoplasmáticas asociadas a funciones específicas pueden ser útiles en marcadores inmunohistoquímicos en CPD. En la tabla 2 se ejemplifican los marcadores más utilizados.

<b>Tabla 2</b>			
<b>Marcador</b>	<b>Expresión en Carcinomas (Aplicación primaria)</b>	<b>Expresión en otro tipo de carcinomas y otro tipo de tumores</b>	<b>Sensibilidad en tumores pobremente diferenciados.</b>
<b>Mammoglobina</b>	Glándula mamaria (60%-80%)	Endometrial (10-30%)	Baja
<b>GCDFP-15</b>	Glándula mamaria (60%-80%)	Pulmón (adenocarcinoma) (2-5%)	Baja
<b>Napsin-A</b>	Pulmonar (adenocarcinoma) (60-80%)	Ovario (células claras) (80-100%) , renal, papilar (70-90%) cortical adrenal (10-20%)	Moderado
<b>Tiroglobulina</b>	Glándula tiroides (80-90%)	Ovario, seroso papilar (5-10%)	Bajo
<b>HepPAR-1</b>	Hepatocelular (70%-90%)	Gástrico, esófagico (5-15%)	Pobre



<b>Arginasa-1</b>	Hepatocelular (80%-90%)	Prostático (<10%) Colangiocarcinoma (<10%)	Moderado-Alto
<b>Villina</b>	Colorrectal (80-90%)	Renal (80-90%), endometrio (30%-40%), ovario (<10%), pulmonar (<10%), gástrico (60-80%)	Moderado.
<b>Inhibina</b>	Cortical Adrenal (85%-95%)	Tumores estromales (>80%)	Moderado- Alto
<b>Calretinina</b>	Cortical Adrenal (85%-95%)	Tumores estromales (>80%), mesotelioma (>80%)	Moderado-Alto

### **Marcadores de tracto gastrointestinal.**

#### **CDX2**

Es un factor de transcripción nuclear, el cual tiene un papel clave controlando la proliferación y diferenciación de las células epiteliales intestinales. Se expresa en el 100% de adenocarcinomas colorrectales, a excepción del genotipo de inestabilidad microsatélital<sup>9</sup>. El patrón de positividad también tiene un significado diagnóstico debido a que la mayoría de los adenocarcinomas de estómago, páncreas y tracto biliar son CDX2<sup>+</sup>; mostrando un patrón más abigarrado o focal cuando se compara con la expresión uniforme característica del adenocarcinoma colorrectal.

El CDX2 se expresa en el 50% de los adenocarcinomas gástricos en particular en el adenocarcinoma del tipo intestinal, y en aproximadamente 1/3 de los carcinomas pancreatobiliares. Los adenocarcinomas de otros sitios, los cuales manifiestan histologías

parecidas al colorrectal, como el carcinoma mucinoso de ovario y vejiga expresan CDX2 con un patrón diferente.

El CDX2 también se expresa en tumores neuroendocrinos, incluyendo aquellos primarios del intestino (tumor carcinoide) y en grado variable al páncreas (tumores de los islotes); aunque la intensidad es generalmente más débil y focal.

### **Villina**

Es una proteína de unión a la actina, que se encuentra en su mayor parte en las microvellosidades, y se limita al epitelio glandular de los del tracto digestivo. Así como el CDX2, la villina se encuentra mayormente expresada en los adenocarcinomas colorrectales. También se puede encontrar en adenocarcinomas primarios del tracto pancreatobiliar y estómago, aunque con menor expresión.

Bacchi et al. <sup>10</sup> demostraron que la sensibilidad a los anticuerpos de villina para la detección de adenocarcinoma del 75%, y 40% para los de páncreas y estómago.

De igual manera que CDX2, la expresión de villina puede ser vista en adenocarcinomas de otros sitios con similitud a la histología gastrointestinal, los cuales incluyen los adenocarcinomas de pulmón, nasofaringe, ovario y vejiga.

### **Marcadores de Carcinoma Hepatocelular.**

#### **Anticuerpo Hep- Par1 (CPS1).**

El anticuerpo monoclonal Hep-Par1 detecta el marcador específico de hepatocitos, la enzima carbamoil fosfato sintasa. En un estudio reciente <sup>11</sup> se encontró la expresión de este anticuerpo en un rango del 70% a 100%. El anticuerpo Hep-Par 1 es el anticuerpo con mayor utilidad en el análisis de tumores del hígado, ayudando a distinguir entre carcinomas metastásicos al hígado de hepatocarcinomas primarios. Sin embargo otros estudios han demostrado expresión de CPS1 (1-10%) en adenocarcinomas primarios de pulmón, páncreas, estómago, ovarios y corteza adrenal.

#### **Arginasa-1.**

Es una enzima que participa en el ciclo de la urea, y parece ser el marcador más sensible (y probablemente el más específico) de hepatocarcinoma hasta la fecha. En inmunohistoquímica se aprecia un patrón granular específico. Yan et al, Reportaron una

sensibilidad del 96% y una especificidad de 100% <sup>12</sup>, excediendo la eficacia de otros marcadores para los tumores primarios de hígado.

### **Glicano-3.**

Es una proteína oncofetal que ayuda a distinguir el hepatocarcinoma de lesiones hepáticas no neoplásicas y adenomas hepáticos.

### **Marcadores de Glándula mamaria.**

#### **Receptor de Estrógeno (RE)**

Tiene un papel limitado en la identificación del sitio primario de los carcinomas, debido a que se presenta únicamente de uno a dos tercios de las neoplasias de glándula mamaria, y en una fracción menor en el sitio de metástasis de cáncer de mama. Este receptor se expresa en una gran variedad de carcinomas, como el primario de endometrio y ovario; también en sitios “inesperados” como carcinomas papilares de la tiroides. Un aspecto importante es que un alto porcentaje de los adenocarcinomas primarios de pulmón pueden expresar RE<sup>13</sup>. En contraste, en los adenocarcinomas de tracto GI, especialmente en los adenocarcinomas colorrectales, es poco frecuente.

#### **GCDFP-15 y Mammoglobina A.**

El GCDFP-15 tienen una sensibilidad aproximada de 45% en cáncer de glándula mamaria <sup>13</sup>; esta sensibilidad está en función del subtipo histológico, siendo mayor en el carcinoma lobular, así como en los tumores con características apocrinas. La expresión de GCDFP-15 se ve en el 5-10% de los carcinomas ováricos y endometriales.

La mammoglobina A es una proteína de 10kDa que tiene una sensibilidad para la identificación de carcinoma de glándula mamaria menor a GCDFP-15 <sup>14</sup>. De igual manera se puede identificar en el 10% de los carcinomas endometriales/ováricos y muestra una expresión similar a la del GCDFP-15 en neoplasias de glándulas salivales y anexiales.

#### **Proteína GATA de unión 3.**

Es una proteína de unión de transcripción tipo dedo de zinc en el DNA que es crucial para la diferenciación de múltiples tejidos, los cuales incluyen las células epiteliales de glándula mamaria, folículos pilosos, linfocitos T, tejido adiposo, riñón y sistema nervioso central. El nivel de sensibilidad de la expresión de GATA3 en los carcinomas de glándula mamaria se

ha reportado del 91% al 100% para tipos ductales y lobulares respectivamente mostrando un patrón más difuso y nuclear. La expresión de GATA3 se expresa en los carcinomas de glándula mamaria (>90%) con una expresión menor en endometrio, páncreas y glándula salival.

#### **Marcadores de pulmón.**

##### **Factor-1 de Transcripción Nuclear Tiroideo (TTF-1).**

Es un miembro de la familia DNA NKX2 de los factores de transcripción que se unen al DNA, durante la embriogénesis el TTF-1 se expresa selectivamente en tiroides, diencéfalo y epitelio respiratorio <sup>15</sup>. Su expresión ha sido demostrada en un pequeño subgrupo de carcinomas ováricos, endometriales y colorrectales.

##### **Napsina A.**

Es una proteasa aspártica que es crucial en la maduración del surfactante B y presente en el citoplasma de los neumocitos tipo 2 y los macrófagos alveolares, tiene una sensibilidad del 79.

#### **Determinación de perfil molecular de tumores.**

La determinación de perfiles moleculares es una técnica prometedora que se basa en la existencia de un gran número de genes de neoplasias malignas ya conocidos y que son examinados por medio de reacción de cadena de polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) o de micromatrices génicas. Esta técnica ha sido validada con el uso de evaluaciones independientes y cegadas en estudios clínicos, con una eficacia de cerca del 90% <sup>16</sup>. En estudios retrospectivos se ha constatado: una predicción del tejido de origen en la mayoría de los casos los cuales son consistentes con las características clínicas y anamopatológicas. En una pequeña serie de casos de pacientes con CPD en los que se detectó un foco primario meses o años después la predicción del origen primario fue correcta en el 75% de los casos. Sin embargo aún no se dispone de evidencia prospectiva que confirme que estas predicciones moleculares conlleven la elección de un tratamiento más eficaz ni que mejoren la supervivencia de pacientes con CPD <sup>17</sup>.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Pregunta de investigación**

- ¿Cuál es el sitio más frecuente de origen de metástasis hepática de tumores de origen desconocido en el Hospital Español?
- ¿Qué utilidad tiene la inmunohistoquímica para la identificación del sitio potencial de origen en lesiones neoplásicas hepáticas?
- ¿Cuáles son la batería de marcadores más utilizados en el departamento de patología del Hospital Español?

### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

El hígado es un sitio frecuente de metástasis, pero hay poca información bibliográfica acerca de la frecuencia en la cual algunos tumores se presentan con metástasis.

El conocimiento del patrón de diseminación es importante para los pacientes que tienen un sitio primario conocido, para poder estadificarlos, crear un esquema de seguimiento; mientras que los pacientes con primario desconocido se puede usar para predecir el sitio primario de origen, lo cual será importante para el tratamiento.

Actualmente la inmunohistoquímica continua siendo el estándar de oro en el diagnóstico de carcinomas de origen primario desconocido.

Pocos estudios se han encontrado en la literatura mundial acerca de la utilidad de la inmunohistoquímica para identificar el sitio primario de metástasis hepáticas.

### **OBJETIVOS:**

#### **OBJETIVOS GENERALES:**

1.-Determinar el sitio de origen tumoral más frecuente de metástasis hepática en la población del Hospital Español de carcinoma de origen desconocido.

2- Determinar la utilidad de la inmunohistoquímica en la identificación de sitio de origen en lesiones neoplásicas hepáticas

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

1.- Describir las características demográficas de la población estudiada: edad, sexo, cuadro clínico al momento de la presentación.

- 2.- Conocer cuales fueron los estudios de gabinete en el abordaje inicial con sospecha de neoplasia.
- 3.- Describir cuantos marcadores en promedio se solicitaron a los pacientes con biopsias hepáticas.
- 4.- Establecer el porcentaje en el cual el departamento de patología pudo concluir el sitio de origen de la metástasis.
- 5.- Conocer cuantas lesiones fueron primarias de hígado

### **HIPÓTESIS**

El sitio más frecuente de origen de la metástasis hepática es el colorrectal, seguido del pulmonar debido a la incidencia de ambos en el mundo y en el país.

### **TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO.**

Estudio descriptivo, retrospectivo, longitudinal. La duración del estudio de acuerdo con la disponibilidad de información fue de cinco años, contados con la autorización del proyecto de enero del 2010 a diciembre de 2015.

### **DEFINICIÓN OPERATIVA DEL ESTUDIO.**

#### **Criterios de inclusión:**

- 1.- Pacientes con biopsia hepática cuya indicación de la toma de muestra haya sido la sospecha por método de imagen de metástasis.
- 2.- Pacientes con estudio histopatológico.
- 3.- Pacientes en quienes se contaba con expediente clínico para poder analizar los datos de su padecimiento.

#### **Criterios de exclusión:**

- 1.- Pacientes que no contaban con expediente clínico en el Hospital Español.

DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES Y UNIDADES DE MEDIDA.

<b>VARIABLES DE ESTUDIO</b>	<b>CATEGORÍA</b>	<b>ESCALA DE MEDICIÓN</b>	<b>UNIDAD DE MEDICIÓN</b>	<b>OPERACIONALIZACIÓN</b>
<b>Tipo de neoplasia identificada</b>	Cualitativa	Nominal	Tipo de neoplasia	Tipo de cáncer que se diagnosticó, basándose en el tipo histológico.
<b>Edad</b>	Cuantitativa	Escala numérica	Años cumplidos al momento del estudio	
<b>Género</b>	Cualitativa	Nominal (dicotómica)	Masculino/ Femenino	
<b>Síntomas</b>	Cualitativa	Nominal	Síntomas clínicos	Tipo de sintomatología: pérdida de peso, fiebre, molestias gastrointestinales.
<b>Marcador inmunohistoquímico</b>	Cualitativa	Nominal	Tipo de marcador utilizado.	Basado en la elección del patólogo.

**PROCEDIMIENTO.**

Los datos se recolectaron de la base de datos del departamento de patología, este registro cuenta con todos los diagnósticos realizados desde el 2003 en el Hospital Español de México, usando palabras clave tales como “metástasis hepática” “primario desconocido” “2010-

2015”, todas las claves arrojadas en el sistema se corroboraron personalmente en los libros de patología.

Los reportes de patología se excluyeron cuando no fue posible encontrar el expediente clínico en el archivo del hospital.

Por pacientes se recolectaron los siguientes datos: edad, género, el año del primer diagnóstico histológico (en caso de múltiples biopsias), sintomatología al momento del diagnóstico, tipo de tumor y subtipo, cuadro de marcadores inmunohistoquímicos, y localización del sitio de origen.

Cuando el sitio del tumor no fue identificado en la conclusión del patólogo, reportes adicionales fueron recolectados y evaluados para identificar el tumor primario. Datos anónimos fueron utilizados cumpliendo con las normas establecidas del comité de investigación y ética del hospital.

#### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

- a) Se realizó análisis exploratorio para verificar los valores ingresados a la base de datos, y evaluar datos perdidos.
- b) El análisis descriptivo se hizo mediana y rangos intercuartílicos. Para variables cualitativas frecuencias absolutas y relativas.
- c) Para las variables cuantitativas se compararon medianas con U de Mann-Whitney. Para variables nominales se contrastaron proporciones con  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher en caso de frecuencias esperadas  $\leq 5$ .
- d) En todos los casos se consideró estadísticamente significativa una  $p < 0.05$ .
- e) Para el análisis estadístico se usó el programa Stata SE versión 12.0.

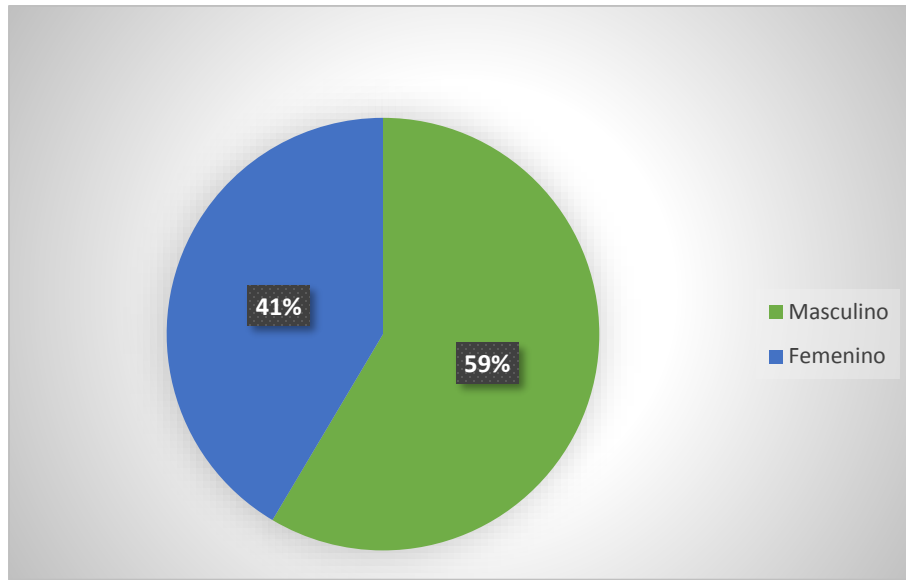


## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

### CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES.

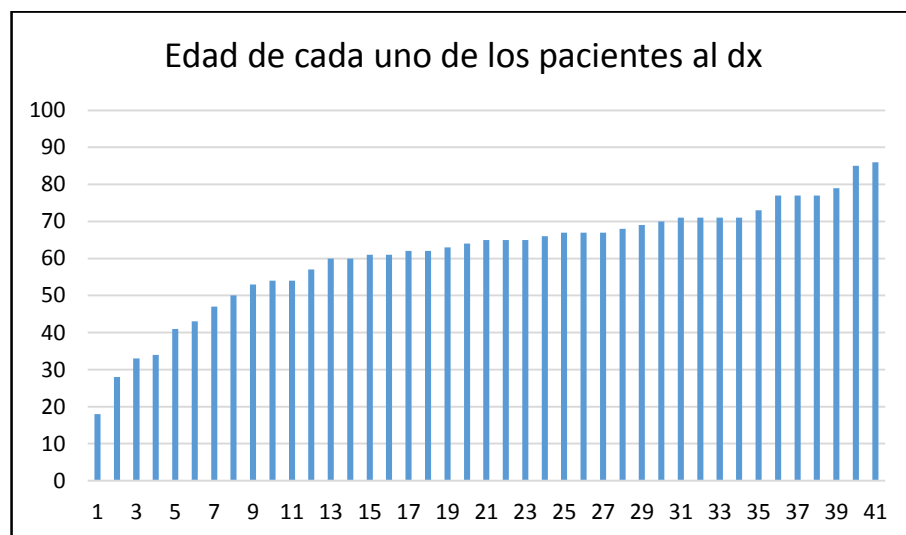
#### SEXO DE LOS PACIENTES .

Hubo una predominancia en hombres que en mujeres (  $n=24$ , 58.5% versus  $n=17$ , 41.4% ;  $p=.382$ ).



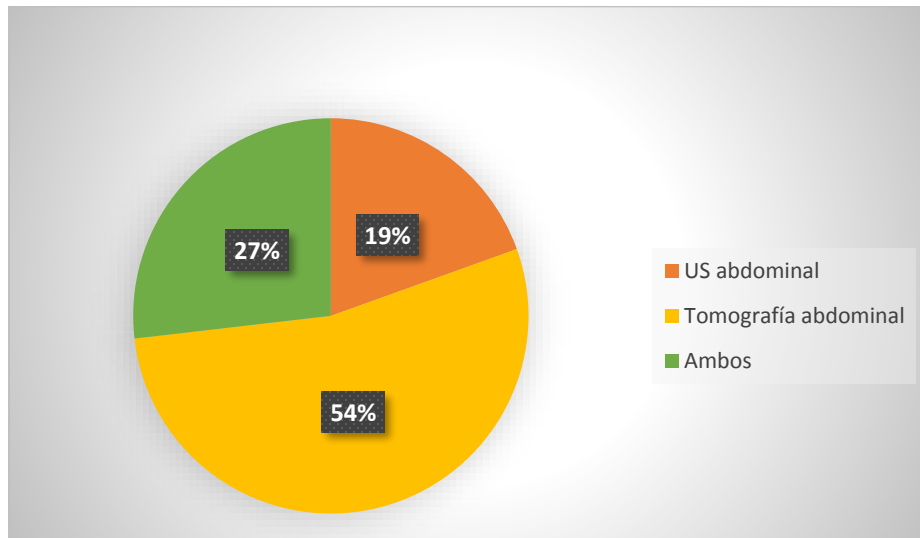
#### EDAD DE LOS PACIENTES

La mayoría de los pacientes fueron mayores de 60 años de edad ( $n=29$ , 70.3%), con una edad promedio global de 65 años. Edad promedio mujeres 64 años, Edad promedio en hombres 66 años .



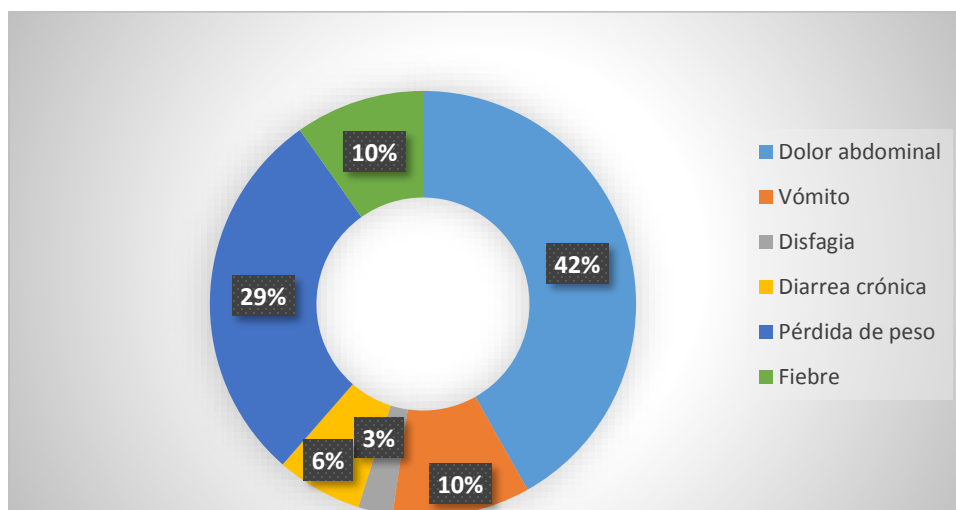
## ESTUDIO DE GABINETE DE DIAGNÓSTICO.

En el abordaje inicial se realizaron solo ultrasonido abdominal en 8 de los 41 (19.5%) pacientes y Tomografía abdominal en 22 de los pacientes (53.6%) ; y un total de 11 pacientes (26.8%) tenían ambos estudios complementarios.



## SÍNTOMAS MÁS FRECUENTES DE PRESENTACIÓN

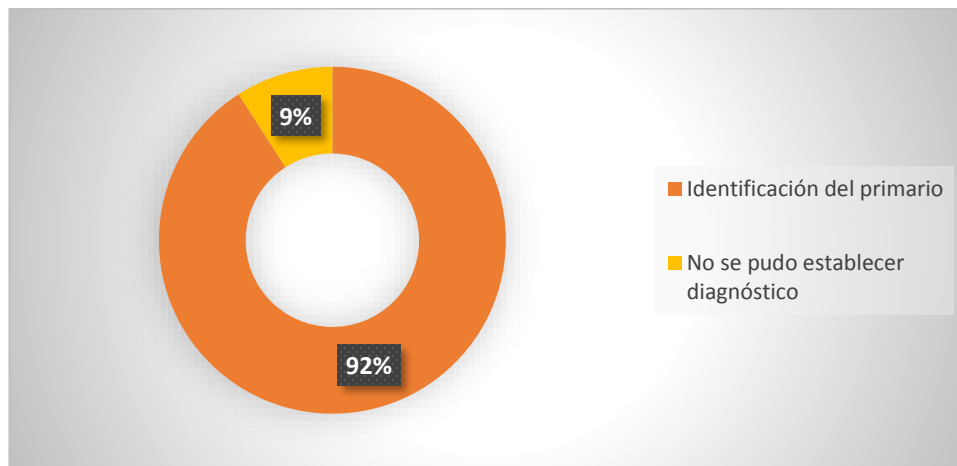
Los seis síntomas más frecuentes fueron **dolor abdominal** 33/41 (80%) global [mujeres 13/17 (76%), hombres 20/24 (83%)  $p=.698$ ], **fiebre** 15/41 (37%) [mujeres 5/17 (29%), hombres 10/24 (42%)  $p=0.519$ ], **vómito** 8/41 (20%) [mujeres 2/17 (12%), hombres 6/24 (25%)  $p=0.43$ ], **diarrea crónica** en 5/41 (12%) [mujeres de los pacientes 1/17 (16%), hombres 4/24 (17%)  $p=.382$ ], **pérdida de peso** 22/41 (54%) [mujeres 10/17 (59%), hombres 12/24 (50%)  $p=.752$ ] y **disfagia** 2/41 (5%) [0% en mujeres, 2/24 (8%)  $p=.502$ ].



## SITIOS DE ORIGEN

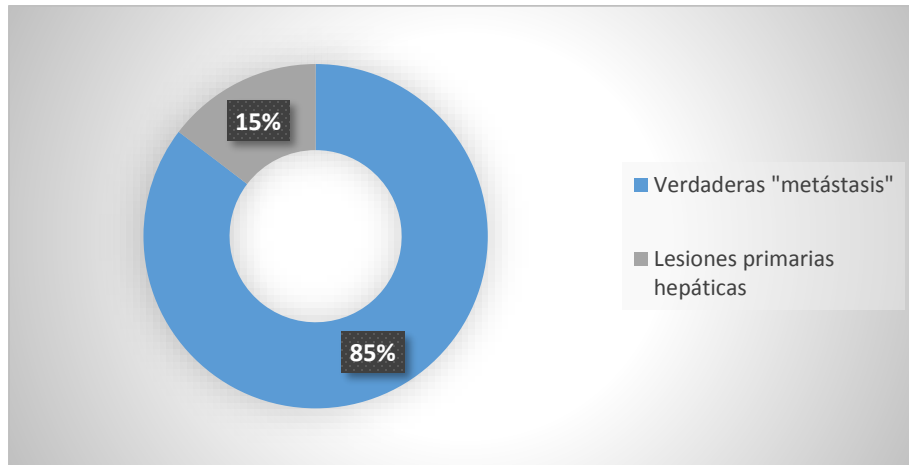
### UTILIDAD DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA PARA IDENTIFICACIÓN DE IMAGEN SOSPECHOSA DE LESIONES NEOPLÁSICAS HEPÁTICAS.

Después de revisar todo el archivo del departamento de patología, y la historia clínica de cada uno de los pacientes sin el conocimiento absoluto de un primario desconocido en 33 pacientes (80%) en el resto 8 pacientes (20%) había una sospecha de acuerdo a la evolución clínica se determinó en la mayoría de los casos el 92.6% ( $n=38$ ) de los pacientes. El patólogo no pudo establecer el diagnóstico de la imagen sospechosa de metástasis hepática en 3/41 casos (7%) .



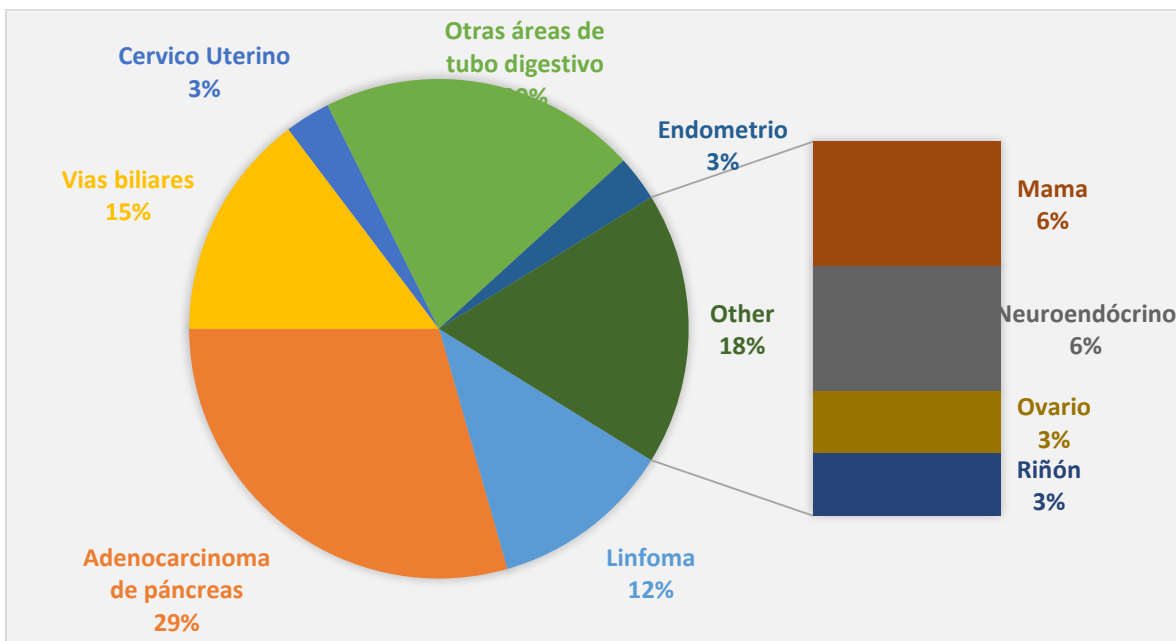
### EXCLUSIÓN DE PACIENTES CON PRIMARIO DE HÍGADO.

En cinco de los 41 pacientes se encontró por medio de marcadores de inmunohistoquímica (Hepar, Arginasa y Glipican 3) que cinco de las imágenes sospechosas de lesiones neoplásicas hepáticas fueron primarios de hígado, por lo cual se excluyeron del número global de pacientes con primario desconocido de metástasis hepáticas, en un paciente más la lesión sospechosa no se trató de neoplasia fue adenoma hepático.



### LOCALIZACIÓN PRIMARIA DEL TUMOR.

El sitio más común para hombres y para mujeres fue el adenocarcinoma de páncreas con un global de  $n=10$  pacientes, 24% del total en hombres y en mujeres ( $n=8$ , 33% vs  $n=2$ , 12%  $p=.152$ ). Otras áreas de tubo digestivo  $n=7$  (17%) ( $n=5$ , 21% versus  $n=2$ , 12%  $p=.679$ ) respectivamente. Linfoma  $n=4$  10% ( $n=3$ , 13% vs  $n=1$ , 16%  $p=.629$ ).



Los marcadores más utilizados en este estudio se muestran a continuación:

<b>Inmunohistoquímica utilizada</b>		
<b>Nombre</b>	<b>Total</b>	<b>Positivos</b>
Alfa-fetoproteína	3	1
Antígeno Carcinoembrionario	4	3
Arginina 1	3	2
Arginasa	4	3
APE (Antígeno Prostático Especifico)	2	0
BCL2	2	0
BCL6	2	2
Calretinina	3	1
Cromogranina	8	4
CA19-9	7	6
CA125	1	1
CDX-2	10	8
CD3 (panT)	3	0
CD4	1	0
CD8	1	0
CD10	2	2
CD20	4	3
CD30	4	0
CD34	4	1
CD45	2	1
CD56	8	3
Citoqueratinas 5/6	3	1
Citoqueratina7	18	14
Citoqueratina 8/18	10	8
Citoqueratina 19	7	4
Citoqueratina 20	16	10
E Cadherina	2	1
Fosfatasa acida prostática	2	0
GCDFP-15	1	0
HEP-PAR1	7	5
HER2/un	2	1
Inhibina	1	0
KI-67	12	12

<b>MUM1</b>	2	1
<b>Mammoglobina</b>	3	1
<b>MART-1</b>	1	0
<b>MSH-1</b>	1	1
<b>MSH-2</b>	1	1
<b>MSH-6</b>	1	1
<b>Napsin-A</b>	5	0
<b>PAX-8</b>	6	3
<b>PMS-2</b>	1	1
<b>Proteína p16</b>	1	1
<b>Proteína P53</b>	3	3
<b>Proteína P63</b>	2	1
<b>Receptores de estrógenos</b>	6	2
<b>Receptores de Progesterona</b>	7	2
<b>Sinaptofisina</b>	8	4
<b>TTF-1</b>	14	1
<b>Villina</b>	11	8
<b>WT-1</b>	3	0
<b>Antígeno de la membrana epitelial</b>	2	1

## DISCUSIÓN.

La causa por la cual las células tumorales tienen predilección por el hígado se ha explicado desde hace dos siglos (2.1). El Dr. Paget formuló la base de la teoría por medio de la “Implantación tumoral por tierra”. Con el avenimiento de nuevas técnicas de gabinete, de expresión nuclear y de histopatología hoy en día se puede establecer el diagnóstico de sitio primario de un carcinoma de sitio primario desconocido en cualquier parte del cuerpo.

Uno de los objetivos de este estudio es conocer la utilidad de la inmunohistoquímica en la identificación de sitio de origen en lesiones neoplásicas hepáticas. Nuestros resultados aportan evidencia a diferencia de lo publicado en la literatura mundial<sup>5</sup> que en la población del Hospital Español el sitio de origen de más frecuente de metástasis hepáticas no es el colorrectal, es la pancreática.

Estos resultados abren nuevas interrogantes acerca de el aumento notable en la incidencia de cáncer pancreático en nuestro medio. De acuerdo con la estadística de Globocan 2012<sup>16</sup> el cáncer pancreático es el responsable de 331,000 muertes por año, y es la séptima causa de cáncer en ambos sexos. El INEGI<sup>17</sup> en el 2010 publicó que el cáncer de páncreas ocupaba el 8vo lugar de cáncer en nuestro país con un índice de fatalidad (IF) de 0.96 %.

El motivo por el cual el cáncer de páncreas se diagnostica más en esta población puede ser debida en el aumento de la eficacia de estudios de gabinete, como se pudo ver en este estudio el 80.4% de los pacientes contaban con tomografía abdominal. Otras probables explicaciones es la edad avanzada de nuestra población que en promedio era de 65 años, y el estudio global se baso en pacientes que tenían una invasión metastásica del tumor primario. A diferencia de estudios de tamizaje efectivos para tumores como glándula mamaria, colorrectal y próstata; hoy no se cuenta con un método efectivo para el cáncer pancreático, por lo que su detección se da en estadios avanzados de la enfermedad.

Es importante recalcar que la identificación de lesiones hepáticas que no fueron metastásicas, se dio gracias a la inmunohistoquímica, en estos casos los marcadores Hepar, Arginasa y Glipican 3 discernieron entre un primario de hígado y una verdadera metástasis hepática. Aún con estos datos la efectividad de la eficacia diagnóstica de la inmunohistoquímica en este estudio llegó a ser de 91%. El 9% correspondió a pacientes en donde el patólogo no pudo identificar el sitio primario debido a la indiferenciación del tumor.



## **CONCLUSIONES.**

En este estudio se evaluaron 41 pacientes, 24 hombres y 17 mujeres de los cuales la edad promedio fue 62 años y 66 años, respectivamente. Los estudios de imagen para abordaje diagnóstico fueron ultrasonido abdominal 46% y/o tomografía abdominal en el 76%. El síntoma de presentación más frecuente fue el dolor abdominal (80%), seguido por pérdida de peso (54%) y fiebre (37%). En el caso de las metástasis, las neoplasias más frecuentes fueron: páncreas (24%), tubo digestivo (17%) y linfoma (10%). Las lesiones primarias de hígado corresponden al 10%. Se utilizaron 53 diferentes marcadores de IHQ, los más utilizados fueron Citoqueratina 7, Citoqueratina 20, Citoqueratinas 8/18, TTF1 y Ki 67.

En lesiones hepáticas sospechosas de metástasis, el uso adecuado de un panel completo de inmunohistoquímica basado en la evaluación morfológica, historia clínica y estudios de imagen, tiene un porcentaje de identificación del sitio primario hasta en un 93% de los casos.

Este estudio permite apreciar los resultados de un adecuado abordaje en las lesiones sospechosas de metástasis hepática en los pacientes que tienen un estadio de invasión tumoral avanzada. Pese que la expectativa de vida es baja, la identificación del sitio primario le permite al médico gastroenterólogo o cualquiera de su equipo interdisciplinario establecer la conducta apropiada para terapias de tratamiento al paciente. Así mismo abre un área de oportunidad de investigación por la cual el cáncer pancreático tiene una especial predilección por el hígado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Loffler H, Puthenparambil J, Hielscher T, et al. Patients with cancer of unknown primary: a retrospective analysis of 223 patients with adenocarcinoma or undifferentiated carcinoma. *Dtsch Arztebl Int.* 2014;111:481–487.
2. Pentheroudakis G, Golfopoulos V, Pavlidis N. Switching benchmarks in cancer of unknown primary: from autopsy to microarray. *Eur J Cancer.* 2007;43:2026–2036.
3. Briasoulis E, Tolis C, Bergh J, Pavlidis N. ESMO Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of cancers of unknown primary site (CUP). *Ann Oncol* 2005;16:Suppl 1:i75-i76.
4. Weiss L. Comments on hematogenous metastatic patterns in humans as revealed by autopsy. *Clin Exp Metastasis.* 1992; 10:191-199.
5. Hugen N, van de Velde CJ, de Wilt JH and Nagtegaal ID. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol.* 2014; 25:651-657 .
6. Jannemarie de Ridder, Johannes H. W. de Wilt, Femke Simmer, Lucy Overbeek, Valery Lemmens, Iris Nagtegaal 'Incidence and origin of histologically confirmed liver metastases: an explorative case-study of 23,154 patients. *Oncotarget,* 2016.
7. National Comprehensive Cancer Network. Occult primary (cancer of unknown primary), version 1. 2013 (Modificado de : [http:// www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#site](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site)).
8. Schweizer J, Bowden PE, Coulombe PA, et al. New consensus nomenclature for mammalian keratins. *J Cell Biol.* 2006;174:169–174. Schweizer J, Bowden PE, Coulombe PA, et al. New consensus nomenclature for mammalian keratins. *J Cell Biol.* 2006;174(2):169–174.
9. Werling RW, Yazdi H, Fanger G, Gown AM. Comparative sensitivities of mammaglobin and gross cystic disease fluid protein-15 as immunohistochemical markers of breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2002;15(1):56A
10. Bacchi C, Gown A. Distribution and pattern of expression of villin, a gastrointestinal-associated cytoskeletal protein, in human carcinomas: a study employing paraffin-embedded tissue. *Lab Invest.* 1991;64(3):418–424.
11. Lugli A, Tornillo L, Mirlacher M, Bindi M, Sauter G, Terracciano LM. Hepatocyte paraffin 1 expression in human normal and neoplastic tissues: tissue microarray analysis on 3,940 tissue samples. *Am J Clin Pathol.* 2004;122(5):721– 727.

12. Yan BC, Gong C, Song J, et al. Arginase-1: a new immunohistochemical marker of hepatocytes and hepatocellular neoplasms. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34(8):1147–1154.
13. Ollayos CW, Riordan GP, Rushin JM. Estrogen receptor detection in paraffin sections of adenocarcinoma of the colon, pancreas, and lung. *Arch Pathol Lab Med*. 1994;118(6):630–632
14. Mazoujian G, Pinkus G, Davis S, Haagensen DJ. Immunohistochemistry of a gross cystic disease fluid protein (GCDFP-15) of the breast. A marker of apocrine epithelium and breast carcinomas with apocrine features. *Am J Pathol*. 1983;110(2):105–112.
15. Guazzi S, Price M, de Felice M, Damante G, Mattei MG, Di Lauro R. Thyroid nuclear factor 1 (TTF-1) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity. *EMBO J*. 1990;9(11):3631–3639.
16. National Comprehensive Cancer Network. Occult primary (cancer of unknown primary), version 1. 2013 (Modificado de : [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp#site](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site)).
17. Pentheroudakis G, Golfinopoulos V, Pavlidis N. Switching benchmarks in cancer of unknown primary: from autopsy to microarray. *Eur J Cancer* 2007;43:2026-36.