

Biomarcadores moleculares y genómica en las metástasis de origen primario oculto

Joan Albanell Mestre

RUTINARIO	RECOMENDABLE	EVIDENCIA INSUFICIENTE
<p>Biopsia generosa para posibilitar múltiples estudios y tipificación histológica</p> <p>Neoplasia pobremente diferenciada</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inmunohistoquímica (interpretar en conjunto con clínica y con H&E): EMA, CK (7, 20), S-100, vimentina, CLA, TTF-1, cromogranina, sinaptofisina, NSE, HCG, AFP, PSA (varones), RE, RP, HER2 • Microscopia electrónica (casos muy seleccionados) • Análisis genéticos (translocaciones, reordenamientos, etc.) si existe sospecha no confirmada de neoplasias hematológicas y en algunos tumores no linfoides muy seleccionados <p>Carcinoma pobremente diferenciado (con o sin características de adenocarcinoma)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Igual que neoplasia pobremente diferenciada <p>Adenocarcinoma moderadamente o bien diferenciado</p> <ul style="list-style-type: none"> • Detalles H&E: características papilares, células en anillo de sello • Inmunohistoquímica: varones: PSA; mujeres: RE y RP, HER2; todos: TTF-1, marcadores neuroendocrinos 	<p>Neoplasia pobremente diferenciada</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inmunohistoquímica: Surf-A y Surf-B, Oct4, fosfatasa alcalina placentaria, mesotelina, CA19.9, trioil factor 1, gross cystic fluid protein 15 <p>Carcinoma pobremente diferenciado (con o sin características de adenocarcinoma)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Igual que neoplasia pobremente diferenciada <p>Adenocarcinoma moderadamente o bien diferenciado</p> <ul style="list-style-type: none"> • Inmunohistoquímica (aparte de la indicada en apartado “validado”) de valor limitado; si se usa, siempre en conjunción con la clínica y H&E • Considerar en algunos casos la microscopia electrónica y los análisis genéticos. <p>Carcinoma de células escamosas</p> <p>Carcinoma neuroendocrino</p>	<p>Estudios de <i>microarrays</i> (prometedor)</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>

RUTINARIO	RECOMENDABLE	EVIDENCIA INSUFICIENTE
<p>Carcinoma de células escamosas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Análisis genético de VEB (orienta a carcinoma nasofaríngeo en histologías indiferenciadas) <p>Carcinoma neuroendocrino</p> <ul style="list-style-type: none"> • Suelen diagnosticarse y subclasificarse a partir de estudios inmunohistoquímicos y ocasionalmente microscopía electrónica y análisis genéticos 		
<p>Otros factores pronósticos biológicos. Primero, determinar los tipos histológicos de (i) neoplasia pobremente diferenciada; (ii) carcinoma pobremente diferenciado (con o sin características de adenocarcinoma); (iii) adenocarcinoma moderadamente o bien diferenciado; (iii) carcinoma de células escamosas y (v) carcinoma neuroendocrino.</p>		

EVALUACIÓN INICIAL

Los tumores metastásicos de origen desconocido (MOD) engloban a un grupo heterogéneo de pacientes con cáncer metastásico sin tumor primario demostrable. La incidencia es del 2-10% de los tumores invasivos. Dada la gran heterogeneidad de las MOD, se deben individualizar la evaluación, el pronóstico y el tratamiento. En todos los pacientes se realiza anamnesis, exploración física, analítica y radiografía de tórax. En función de la clínica, se realizan pruebas radiológicas (TAC, PET, etc.) o endoscópicas adicionales.

Es crítico que se obtenga un material histológico suficiente y que éste sea revisado por un patólogo experto. La mayoría corresponden a carcinomas metastásicos de primario desconocido, pero otros pacientes presentan otros tipos histológicos. En estos son críticos los estudios anatomopatológicos especializados para aclarar el tipo de neoplasia. Las recomendaciones de evaluaciones adicionales, tratamiento y pronóstico se establecen en base a esta evaluación clínica inicial y al estudio anatomopatológico.

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE BIOMARCADORES EN EL ESTUDIO DE LAS METÁSTASIS DE ORIGEN DESCONOCIDO

Los biomarcadores en esta entidad deben tratarse de manera conjunta considerando la clínica y, sobre todo, la histología. En función de estos dos parámetros, se aborda la necesidad o no de estudios de biomarcadores. Los biomarcadores (IHQ, microscopía electrónica, análisis genéticos) deben interpretarse de manera conjunta con la clínica y la patología.

Inmunohistoquímica (validados o convenientes de realizar)

Los marcadores de inmunohistoquímica en el estudio de las metástasis de origen desconocido son de ayuda en la tipificación o localización del tumor primario, pero no son un 100% específicos o sen-

sibles (**Tablas I y II**). La elección de la batería concreta de marcadores a realizar depende de las características clínicas y patológicas de cada caso. La interpretación de los resultados debe tener en cuenta también la clínica, la histología y la inmunohistoquímica.

TABLA I. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS GENERALES EN MOD	
Tipo tumoral sugerido	Antígenos
Carcinoma	Tinciones epiteliales (citoqueratina, EMA) positivas; LCA, S-100, vimentina negativa
Linfoma	LCA positiva, raros falsos negativos EMA ocasionalmente positiva Todas las otras tinciones negativas
Sarcoma Mesenquimal Rabdomiosarcoma Angiosarcoma	Vimentina positiva, tinciones epiteliales habitualmente negativas Desmina positiva Factor VIII positivo
Melanoma	S-100, vimentina, HMB-45 positivo, NSE a veces positivo, sinaptofisinas negativas, tinciones epiteliales negativas
Tumor neuroendocrino	NSE, cromogranina, sinaptofisina positiva, tinciones epiteliales positivas
Tumor germinal	HCG, AFP positiva, tinciones epiteliales positivas
Cáncer de próstata	PSA positivo, raros falsos negativos y positivos, tinciones epiteliales positivas
Cáncer de mama	RE y RP positivos, tinciones epiteliales positivas
Cáncer de tiroides Folicular Medular	Tiroglobulina positiva Calcitonina positiva

Hay algunos problemas con la IHQ que se deberían considerar. Es importante la experiencia técnica para que las determinaciones sean precisas y reproducibles, y deben interpretarse por un patólogo experimentado. Se deben teñir laminillas de control, y analizarse de manera concomitante con el caso en estudio, dado que la tinción inespecífica puede confundir el análisis. Se debe tener, también, precaución en la sobreinterpretación de los resultados, dado que ningún patrón es del todo específico. Algunas tinciones, tales como ALC o PSA, son relativamente específicas, pero incluso en estos casos puede haber falsos positivos o negativos.

En algunos casos, los patrones de tinción IHQ, en pacientes con neoplasias indiferenciadas, pueden ayudar a planificar el tratamiento y a predecir la evolución.

También, algunas tinciones de citoqueratinas (sobre todo CK7 y CK20) pueden sugerir algunos orígenes de las metástasis pero, aun así, no permiten ser suficientemente precisas como para confiar en tales resultados de manera rutinaria (Tabla II). Se siguen desarrollando nuevos anticuerpos, por lo que este área del diagnóstico patológico está en continua evolución.

Microscopía electrónica (validada o conveniente de realizar)

La microscopía electrónica puede ser de ayuda en algunas neoplasias indiferenciadas. Sin embargo, no se dispone de ella en la mayoría de laboratorios, requiere una fijación especial del tejido, y es relativamente cara. Por ello, se reserva para el estudio de las neoplasias cuyo linaje sigue siendo incierto tras el análisis histológico e inmunohistoquímico. La microscopía electrónica es fiable para distinguir entre carcinoma y linfoma. Parece superior a la IHQ para identificar sarcomas pobremente diferenciados. Otras estructuras pueden sugerir un tumor determinado, p. ej.: el melanoma, el tumor neuroendocrino, el adenocarcinoma o el carcinoma escamoso.

TABLA II. EXPRESIÓN DE CITOQUERATINA 7 Y 20 Y ORIENTACIÓN SOBRE POSIBLE LOCALIZACIÓN DEL TUMOR PRIMARIO (Chu <i>et al.</i> Histopathology 2002; 40: 403)	
CK7+ CK20+	CK7- CK20+
Mucinoso de ovario (90%) Células transicionales (65%) Adenocarcinoma de páncreas (65%) Colangiocarcinoma (65%) Adenocarcinoma gástrico (40%) Tumores que se excluyen ($\leq 5\%$) Carcinoide: células germinales, o escamoso de esófago o cabeza y cuello, o hepatocarcinoma, o microcítico y escamoso de pulmón, ovario no mucinoso	Adenocarcinoma colorrectal (80%) Células de Merkel (70%) Adenocarcinoma gástrico (35%) Tumores que se excluyen ($\leq 5\%$) Mama, carcinode de pulmón, colangiocarcinoma, escamoso de esófago, células germinales, todos los tipos de pulmón, hepatocarcinoma, ovario, adenocarcinoma de páncreas, adenocarcinoma renal, células transicionales, útero
CK7+ CK20-	CK7- CK20-
Ovario no mucinoso (100%) Tiroides (los tres tipos) (100%) Mama (90%) Adenocarcinoma de pulmón (90%) Endometrioide de útero (85%) Mesotelioma (65%) Células transicionales (35%) Adenocarcinoma de páncreas (30%) Colangiocarcinoma (30%) Tumores que se excluyen ($\leq 5\%$) Adenocarcinoma colorrectal, mucinoso de ovario	Adrenal (100%) Células germinales (95%) Próstata (85%) Hepatocarcinoma (80%) Adenocarcinoma renal (80%) Carcinoide intestinal y pulmonar (80%) Microcítico y escamoso de pulmón (75%) Escamoso de esófago (70%) Escamoso de cabeza y cuello (70%) Mesotelioma (35%) Tumores que se excluyen ($\leq 5\%$) Mama, colangiocarcinoma, adenocarcinoma de pulmón, ovario, adenocarcinoma de páncreas

Análisis genéticos (validados o conveniente de realizar)

Neoplasias hematológicas

Las anomalías cromosómicas están bien caracterizadas, sobre todo en las neoplasias hematológicas. En los casos en los que tras los estudios IHQ y la microscopía electrónica no puede establecerse de manera definitiva el diagnóstico de linfoma, la detección de translocaciones cromosómicas —t(14:18), t(8:14), t(11:14) u otras— o los reordenamientos de genes de inmunoglobulinas proporcionan un diagnóstico definitivo.

Neoplasias no hematológicas

La translocación t(11:22) se ha observado en los neuroepiteliomas periféricos, en los tumores de células redondas pequeñas desmoplásicos y, frecuentemente, en el sarcoma de Ewing.

En un alto porcentaje de tumores de células germinales se ha detectado un isocromosoma del brazo corto del cromosoma 12 (i12p) y otras anomalías del cromosoma 12. Se ha desarrollado una técnica que permite su análisis a partir de material incluido en parafina.

Otras anomalías citogenéticas observadas son: t(2:13) en el rhabdomiocarcinoma alveolar; la deleción 3p en el cáncer de pulmón de célula pequeña; la deleción 1p en el neuroblastoma; t(X:18) en el sarcoma sinovial; y la deleción 11p en el tumor de Wilms.

En las metástasis ganglionares cervicales se ha identificado el genoma del virus de Epstein-Barr, lo que es altamente sugestivo de carcinoma nasofaríngeo. Puede determinarse por PCR y FISH.

Estudios de *microarrays* (no recomendado –prometedor–)

Los estudios de *microarrays* son prometedores como método de clasificación de las neoplasias y para la identificación de los tumores primarios en base a los perfiles de expresión génica. Se han comercializado o están en desarrollo, en los EE. UU. y Europa, cinco plataformas, siendo dos de ellas compatibles con muestras parafinadas.

La precisión global en la clasificación del cáncer, en estudios en los que el tumor primario era conocido, es del 80% al 90%. Estudios en pacientes con MOD sugieren una precisión similar al contrastar los resultados con las características clínicas. Están en curso estudios para seguir validando la capacidad de estas plataformas para identificar el origen de las MOD. El impacto de esta nueva tecnología en la evolución de los pacientes se encuentra en estudio.

Tipos de neoplasia

Neoplasia indiferenciada

Son un 5% de las MOD. Son tumores en los que el patólogo no puede distinguir entre carcinoma, linfoma, melanoma o sarcoma. Es esencial aclarar el diagnóstico, ya que existen tratamientos específicos potencialmente curativos. Tras un estudio patológico completo, la mayoría pueden catalogarse correctamente; un 3% son linfomas, un 1% son adenocarcinomas o carcinomas pobremente diferenciados, y un 1% son melanomas, sarcomas u otros tumores específicos. El estudio patológico incluye una batería de inmunohistoquímica y puede ser necesaria la microscopía electrónica y los estudios genéticos.

Los carcinomas generalmente son positivos para CAM5.2 y EMA, mientras que S-100 es específico del melanoma y LCA es positivo para todas las leucemias y los linfomas. La fosfatasa alcalina placentaria es positiva para el seminoma, mientras que es con menor frecuencia positiva en los tumores germinales no seminoma (Tabla I).

Adenocarcinoma bien diferenciado o moderadamente diferenciado

Son un 60% de las MOD. La evaluación clínica incluye exploraciones radiológicas, estudios adicionales para evaluar signos o síntomas, y determinación de PSA sérico en los varones, y en las mujeres la realización de mamografía y CA-15.3 y CA-125 séricos. A nivel histológico, se determina: en los varones, el PSA en el tumor; y en las mujeres, los receptores de estrógenos, la progesterona y HER2 en el tumor. La realización de una batería de inmunohistoquímica puede orientar sobre el tumor primario (Tablas I y II). Tras estos estudios, el paciente puede clasificarse en alguno de los subgrupos siguientes:

- Mujeres con afectación de los ganglios axilares.
- Mujeres con carcinomatosis peritoneal.
- Varones con metástasis óseas blásticas, nivel alto de PSA en el suero, o tinción de PSA en el tumor.
- Localización metastásica única.
- Otras MOD de adenocarcinoma.

Carcinoma pobremente diferenciado y adenocarcinoma pobremente diferenciado

Son un 30% de las MOD. La evaluación clínica incluye exploraciones radiológicas, estudios adicionales para evaluar signos o síntomas, y determinación de HCG y AFP séricos. A nivel histológico, se de-

terminan tinciones inmunohistoquímicas (Tablas I y II) y anomalías cromosómicas. Tras estos estudios, el paciente puede clasificarse en alguno de los subgrupos siguientes, con implicaciones terapéuticas.

Tumores de células germinales atípicos

- Síndrome de cáncer germinal extragonadal.
- Otros.

Carcinoma escamoso

Son un 5% de las MOD. La evaluación clínica incluye panendoscopia en los pacientes que se presentan con un ganglio cervical, broncoscopia en los pacientes con presentación supraclavicular (también en los pacientes con carcinoma escasamente diferenciado), y exploraciones pélvica, rectal y anoscopia en los pacientes con presentación inguinal (también en los pacientes con carcinoma escasamente diferenciado). A nivel histológico, se pueden realizar estudios genéticos en los casos de sospecha de cáncer de nasofaringe para determinar los genes virales de Epstein Barr. Tras estos estudios, el paciente puede clasificarse en alguno de los subgrupos siguientes:

- Adenopatía cervical con/sin carcinoma de nasofaringe.
- Supraclavicular.
- Adenopatía inguinal.
- Otras MOD de adenocarcinoma escamoso. Cuando concurren metástasis en otras localizaciones hay que considerar un tumor primario pulmonar.

Carcinoma neuroendocrino

La evaluación clínica incluye exploraciones radiológicas. A nivel histológico, se determina tinciones inmunohistoquímicas (NSE, cromogranina, sinaptofisina +, tinciones epiteliales +) y microscopía electrónica. Tras estos estudios, el paciente puede clasificarse en alguno de los subgrupos siguientes:

- Bajo grado.
- Carcinoma de células pequeñas.
- Carcinoma pobremente diferenciado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. Arch Pathol Lab Med 2008 Mar; 132 (3): 326-48.
2. Bender RA, Erlander MG. Molecular classification of unknown primary cancer. Semin Oncol 2009 Feb; 36 (1): 38-43.
3. Culine S. Prognostic factors in unknown primary cancer. Semin Oncol 2009 Feb; 36 (1): 60-4.
4. Dennis JL, Hvidsten TR, Wit EC, Komorowski J, Bell AK, Downie I, *et al.* Markers of adenocarcinoma characteristic of the site of origin: development of a diagnostic algorithm. Clin Cancer Res 2005 May 15; 11 (10): 3766-72.
5. Dennis JL, Oien KA. Hunting the primary: novel strategies for defining the origin of tumours. J Pathol 2005 Jan; 205 (2): 236-47.
6. Greco FA, Burris HA 3rd, Erland JB, Gray JR, Kalman LA, Schreder MT, *et al.* Carcinoma of unknown primary site. Cancer 2000 Dec 15; 89 (12): 2655-60.
7. Greco FA, Hainsworth JD. Introduction: unknown primary cancer. Semin Oncol 2009 Feb; 36 (1): 6-7.
8. Greco FA, Pavlidis N. Treatment for patients with unknown primary carcinoma and unfavorable prognostic factors. Semin Oncol 2009 Feb; 36 (1): 65-74.

9. Hainsworth JD, Fizazi K. Treatment for patients with unknown primary cancer and favorable prognostic factors. *Semin Oncol* 2009 Feb; 36 (1): 44-51.
10. Horlings HM, van Laar RK, Kerst JM, Helgason HH, Wesseling J, van der Hoeven JJ, *et al.* Gene expression profiling to identify the histogenetic origin of metastatic adenocarcinomas of unknown primary. *J Clin Oncol* 2008 Sep 20; 26 (27): 4435-41.
11. NCCN. Occult primary. Practice guidelines in oncology v1. 2009.
12. Oien KA. Pathologic evaluation of unknown primary cancer. *Semin Oncol*. 2009 Feb; 36 (1): 8-37.
13. Oien KA, Evans TR. Raising the profile of cancer of unknown primary. *J Clin Oncol* 2008 Sep 20; 26 (27): 4373-5.
14. Pavlidis N, Briasoulis E, Hainsworth J, Greco FA. Diagnostic and therapeutic management of cancer of an unknown primary. *Eur J Cancer* 2003 Sep; 39 (14): 1990-2005.
15. Spigel DR, Hainsworth JD, Greco FA. Neuroendocrine carcinoma of unknown primary site. *Semin Oncol* 2009 Feb; 36 (1): 52-9.
16. Varadhachary GR, Greco FA. Overview of patient management and future directions in unknown primary carcinoma. *Semin Oncol* 2009 Feb; 36 (1): 75-80.
17. Varadhachary GR, Talantov D, Raber MN, Meng C, Hess KR, Jatkoe T, *et al.* Molecular profiling of carcinoma of unknown primary and correlation with clinical evaluation. *J Clin Oncol* 2008 Sep 20; 26 (27): 4442-8.