

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS  
AMÉRICAS**

**MEDICINA Y CIRUGÍA**

**PRINCIPALES TIPOS HISTOLÓGICOS DE  
NEOPLASIAS DE PÁNCREAS Y VÍA BILIAR  
EXTRAHEPÁTICA: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA  
DE LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS A NIVEL MUNDIAL.**

**ALONSO RIVERA CÉSPEDES**

**PRISCILLA PADILLA BRENES**

**SAN JOSÉ, NOVIEMBRE, 2018**



# Índice

## Tabla de contenido

Índice .....	3
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Formulación del problema.....	2
Objetivos .....	2
<b>Justificación</b> .....	2
<b>CAPÍTULO II: MARCO REFERENCIAL</b> .....	5
Tipos histológicos de cáncer de páncreas.....	9
<b>CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO</b> .....	16
<b>Diseño</b> .....	16
<b>Restricciones y limitaciones</b> .....	16
<b>Palabras claves utilizadas en la búsqueda</b> .....	16
Criterios.....	16
Se utilizaron artículos actualizados de los últimos cinco años (2012-2016), incluyendo los de diseño transversal, acerca de los tipos histológicos de cáncer de páncreas y vía biliar extrahepática. ....	17
<b>CAPÍTULO IV: ANALISIS Y RESULTADOS</b> .....	18
<b>Enriquecimiento de células tisulares y carga de mutación</b> .....	19
<b>Determinantes de la carga de mutación y del espectro</b> . ....	20
<b>Variación del número de copias y el papel de MYC</b> .....	20
<b>Genes significativamente mutados en el cáncer de páncreas</b> .....	21
<b>Vías frecuentemente mutadas en el cáncer de páncreas</b> .....	22
<b>Recolección de tejidos y microdissección</b> . ....	25
<b>Control de calidad y secuenciación del ADN</b> .....	26
<b>Selección de pacientes y seguimiento</b> .....	44
<b>Histología e inmunohistoquímica</b> .....	45
<b>Análisis molecular</b> .....	47
<b>Análisis estadístico</b> .....	47
<b>Datos clínico-patológicos</b> .....	48
<b>Patología</b> .....	48
<b>Seguimiento y Supervivencia</b> .....	50

**4.1.5 Estudio 5** ..... 56

**Stotz y otros (2013)** indican que el aumento de la proporción de neutrófilos y linfocitos es un factor de mal pronóstico en pacientes con cáncer pancreático operable e inoperable primario. En comparación con otras entidades tumorales, la incidencia de cáncer de páncreas (CP) es baja y no ha cambiado mucho durante las últimas dos décadas. aunque en la mayoría de las enfermedades malignas se puede alcanzar un progreso continuo en la terapia específica del tumor o el resultado, el manejo de la CP aún no es satisfactorio, ya que hasta ahora no se ha logrado ningún avance en la terapia con CP. .... 56

Por tanto, dicen Stotz y otros (2013) que desafortunadamente, la mortalidad por CP es casi del 100% después de un seguimiento de 5 años. La alta mortalidad está relacionada con la progresión del tumor local y las complicaciones de las metástasis a distancia. Potencial limitado de la resección curativa como única medida de curado es el resultado de síntomas no específicos hasta una enfermedad asintomática durante mucho tiempo, ya pesar de los tremendos avances, la tecnología de imágenes aún insatisfactoria. .... 56

En el momento del diagnóstico, la mayoría de los pacientes dependen de la quimioterapia paliativa, cuya eficacia es insatisfactoria. En consecuencia, se debe realizar una investigación intensa en relación con la falta de regímenes específicos de tumores disponibles y una detección de tumores temprana insuficiente. Actualmente, la predicción de la progresión o recurrencia del tumor se limita al uso de factores histopatológicos y clínicos, como el tamaño del tumor, el grado histológico, el subtipo histológico o la edad en el momento del diagnóstico. .... 56

La identificación de nuevos factores pronósticos podría permitir una mejor estratificación del riesgo para las modalidades de tratamiento adyuvante después de la cirugía o un tratamiento más agresivo en pacientes con enfermedad metastásica primaria. La validación externa de las herramientas de evaluación de riesgo pronóstico en cohortes independientes de pacientes es primordial antes de la generalización de la aplicabilidad de un marcador o modelo pronóstico. .... 57

Comentan Stotz y otros (2013) que los cambios en la respuesta inflamatoria sistémica a la manifestación de células tumorales o la inflamación sistémica pueden medirse fácilmente mediante parámetros basados en la sangre, como la tasa de sedimentación de eritrocitos, la proteína C reactiva (CRP) o diferentes niveles de glóbulos blancos, por ejemplo, un mejor resultado para una alta densidad de linfocitos en el estroma tumoral que en uno inferior. Es importante destacar que, especialmente, se ha asumido que la proporción de neutrófilos y linfocitos (NLR) es un marcador confiable y fácilmente disponible para predecir la supervivencia de los pacientes en diferentes tipos de cáncer. .... 57

En los últimos años de acuerdo con Stotz y otros (2013), estos hallazgos han sido probados en varias entidades tumorales con respecto a su papel en la predicción de la progresión y el pronóstico del cáncer. En CP, existen datos controvertidos con respecto a la NLR y el resultado del tumor, pero la mayoría de estos estudios incluyeron números bastante pequeños de casos investigados ( $n < 100$ ) y difieren en términos de criterios de inclusión y puntos finales clínicos. .... 57

Por lo tanto, el objetivo del estudio de Stotz y otros (2013) fue validar externamente el valor de la NLR como parámetro pronóstico en una gran cohorte de 371 pacientes con CP. Para este propósito, probó la relevancia pronóstica de la NLR con respecto a la supervivencia específica para el cáncer (CSS), estratificada para los pacientes (A) que se sometieron a resección quirúrgica (grupo 1) y (B) pacientes que no estaban operativos al momento del diagnóstico ( Grupo 2). .... 57

**Análisis estadístico** ..... 59

**Fondo:** ..... 67

**Métodos:**..... 67

<b>Resultados:</b> .....	67
<b>Conclusión:</b> .....	68
Colangiografía .....	73
Colangioscopia.....	74
Tomografía por emisión de posición / tomografía computarizada.....	75
Tabla 1.....	75
Resección quirúrgica.....	77
Trasplante de hígado .....	78
Tratamiento paliativo .....	78
Puesta en escena.....	79
Subtipos histológicos.....	80
Resección curativa .....	81
Metástasis ganglionar.....	81
<b>Materiales y métodos</b> .....	86
Selección de pacientes.....	86
Microdissección y análisis de mutaciones <i>KRAS</i> y <i>GNAS</i> . .....	86
Inmunohistoquímica.....	87
Análisis estadístico.....	88
Mutación <i>KRAS</i> .....	88
Mutación <i>GNAS</i> .....	90
p53 inmunohistoquímica .....	90
Resumen.....	93
Métodos: .....	94
Resultados: .....	94
Conclusiones.....	94
Tabla 2.....	97
Tabla 3.....	104
Medición del tamaño global del tumor.....	107
Carcinoma invasor: evaluación y reporte .....	108
Definición de “IPMN maligno” .....	117
Calificación de IPMN.....	117
Subtipos IPMN .....	118
Definición y delineación de IPMN a partir de sus imitadores. ....	121
Tumores coincidentes y páncreas no comprometidos. ....	124
Evaluación de la sección congelada. ....	125

Reporte de muestras de citología.....	126
Los principios de notificación para IPMN también son aplicables a otras neoplasias tumorales intraepiteliales del tracto pancreatobiliar.....	128
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES .....</b>	<b>137</b>
De acuerdo con el objetivo general se concluye que los artículos y estudios realizados en los últimos 5 años muestra una tendencia a que las neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática frecuentemente se presentan en grupos etarios de 35 a 50 años, donde la epigenética muestra que es más posible que se den este tipo de neoplasias se desarrollen. ....	137
Describiendo publicaciones de los últimos 5 años a nivel mundial sobre las neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática, se observa que las neoplasias de páncreas los diferentes tipos histológicos tiene una incidencia más alta que las neoplasias de vía biliar extrahepática, por las cuales los estudios genéticos se han centrado más en las neoplasias de páncreas.....	137
Revisando las tendencias de los estudios actuales se observa en los artículos, libros y publicaciones médicas revisadas, los científicos se centran en la parte genética y epigenética para explicar y entender e porque ciertas neoplasias son más frecuentes y el grupo etario con mayor riesgo mostrando así la importancia de los genes y los factores que actúan sobre ellos y por qué estos llegan algunos a producir oncogénesis. ....	137
Referencias.....	139

## **CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN**

### **Planteamiento del problema.**

Los tumores del aparato digestivo son considerados como problema de salud pública, por su elevada mortalidad.

El incremento de cáncer del aparato digestivo en los últimos cinco años, plantea la necesidad de evaluar la implementación de programas de escrutinio en población de riesgo, así como estudiar los diversos factores etiológicos que influyen en su presentación.

En nuestra previa investigación para la elección del tema, observamos que la prevalencia de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática es baja a nivel mundial, debido a que estas neoplasias son de difícil diagnóstico en etapas tempranas y generalmente son detectadas en estadios avanzados, por lo que su pronóstico es malo y la tasa de supervivencia a cinco años es de 25% luego de una cirugía radical.

Los cambios en el estilo de vida, la urbanización de diferentes regiones y otros factores, han transformado los patrones de morbilidad y mortalidad de la población. Esto ha reducido la frecuencia de ciertas enfermedades, mientras las patologías crónicas como los padecimientos cardiovasculares y el cáncer, ocupan ahora las primeras causas de muerte en nuestro país.

Con respecto a lo anteriormente planteado, se compilaron varios estudios bibliográficos para resumir y demostrar la prevalencia, tipos histológicos y grupos etarios en los cuales se presenta con más frecuencia las neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática.

Lo que nos permitió plantearnos el siguiente problema de investigación:

¿Según la literatura más actual, qué tipos histopatológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática afectan a los pacientes con este tipo de neoplasias?

## **Formulación del problema.**

¿Según la literatura más actual, qué tipos histopatológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática afectan a los pacientes con este tipo de neoplasias?

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Analizar las investigaciones de los últimos cinco años relacionado con los principales tipos histológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática y su prevalencia según grupo etario.

### **Objetivos específicos.**

Describir las publicaciones sobre los principales tipos histológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática.

Revisar las tendencias de las publicaciones revisadas.

Realizar conclusiones y recomendaciones para la realidad costarricense.

## **Justificación**

Este trabajo de revisión bibliográfica, tiene como objetivo principal compilar datos mundiales sobre los tipos histológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática y su prevalencia según grupo etario.

Esto puede ser útil para que las instituciones encargadas sobre el estudio, tratamiento, compilación de datos y que dan apoyo a la población que presentan estos tipos de neoplasias ayuden a resolver algunos de los problemas relacionados con la falta de información más detallada y precisa sobre la prevalencia, incidencia y tipos histológicos más frecuentes a nivel nacional.

La importancia de esta investigación radica, entonces, en el impacto social y gubernamental que pudiera tener en un futuro ya que la información obtenida se va a canalizar a las autoridades de salud competentes, para que ellas en conjunto pueda formular estrategias a nivel nacional y así poder tratar este tipo de neoplasias, disminuir su incidencia e identificar su prevalencia según sus grupos etarios.

Con la información mundial más actualizada en los últimos cinco años acerca del tema, brindamos un parámetro más cercano sobre la realidad mundial en comparación a nivel nacional.

## **Antecedentes**

### **Antecedentes históricos**

En 1954, Frantz reportó por primera vez la neoplasia sólida pseudopapilar del páncreas. Sin embargo, su patología la describió Hamoudi (1970) y Klöppel (1981) la describió como una entidad clínica particular. Este tumor es infrecuente y de bajo grado de malignidad, según (Blanco & Zamora, 2015).

El cáncer de la vía biliar se conoce desde hace más de un siglo. El carcinoma de vesícula biliar fue descrito por primera vez por Maximilian de Stoll en 1777. En 1889, Musser publicó 18 casos de cáncer primario de la vía biliar extrahepática. Altemeier comunico tres casos en 1957 y Klatskin 12 publicó 13 casos de canceres de la bifurcación del conducto hepático en 1965, según (Fatechi, Leiva, & Roa, 2008).

### **Antecedentes internacionales.**

El cáncer de páncreas se considera uno de los más letales y difíciles de tratar. En el año 2000 la incidencia mundial fue de 217.000 nuevos casos y la mortalidad de 213.000, por lo que se

calcula que el número anual de nuevos casos equipara al de fallecidos, según (Vaquero & Castells, 2005).

(Robbins & Cotran, 2013) destaca que en el año 2008 el cáncer de páncreas ocupó el trigésimo lugar en incidencia y el octavo en mortalidad a nivel mundial. La tasa de incidencia fue de 12.1/100,000, con una edad media de aparición de 71 años. En México El GLOBOCAN 2008 reportó una incidencia de 4,129 casos (3.2%) y una mortalidad 3,976 casos (5%). El INEGI reportó 74,685 muertes por cáncer en el 2010 para México (13%) de las cuales 3,393 (4.8%) eran por cáncer de páncreas, ubicándose en el octavo lugar en ese país.

Para este año 2017, los cálculos según la (Sociedad Americana contra el cáncer, 2017) en los Estados Unidos son que aproximadamente 53,670 personas (27,970 hombres y 25,700 mujeres) serán diagnosticadas con cáncer de páncreas y aproximadamente 43,090 personas (22,300 hombres y 20,790 mujeres) morirán a causa de cáncer de páncreas.

Las neoplasias de la vía biliar son infrecuentes y se asocian a una alta mortalidad y mal pronóstico. Ocupa el quinto lugar entre los cánceres digestivos después de estómago, colon, recto y esófago; si dividimos la vía biliar en tres tercios, el 55% de los tumores biliares involucran al tercio superior, el 15% al medio, el 20% al inferior y un 10% es difuso, según (Fatechi, Leiva, & Roa, 2008).

Según (Fatechi, Leiva, & Roa, 2008), el cáncer de vesícula biliar es una enfermedad frecuente en el noroeste argentino. La tasa de mortalidad anual para el cáncer de vesícula y vías biliares en la provincia de Salta fue 6,7 (por 100.000 habitantes) para el año 2001, siendo la tercera causa de muerte por cáncer en mujeres en la provincia. La tasa de mortalidad anual en la República Argentina fue 3,7 para el período 1989-1992, siendo la novena causa de muerte por cáncer en mujeres.

Además, (Fatechi, Leiva, & Roa, 2008) menciona que las tasas más altas de incidencia se registran en Chile, habitantes del noreste de Europa, Israel, indios americanos y americanos de origen mexicano. A 200 años de la descripción inicial, este tumor aún se caracteriza por una evolución desfavorable como consecuencia del curso clínico solapado, que en el momento del diagnóstico ya se presenta como una enfermedad avanzada imposible de resear.

Según (Ugarte & Jezdic, 2010) en Europa, el cáncer de páncreas es el séptimo más frecuente. En la Unión Europea 11,6 hombres por cada cien mil son diagnosticados con cáncer de páncreas cada año. Esta frecuencia varía entre 4,7 (Chipre) y 17,2 (Hungría), siendo la causa de muerte de 35000 hombres aproximadamente cada año. En mujeres, afecta a 8,1 mujeres por cada cien mil cada año, variando desde 2,1 (Chipre) a 11,4 (Finlandia), es igualmente la causa de muerte de 35000 mujeres cada año. La frecuencia de casos nuevos aumenta con la edad y la mayoría de los casos se diagnostica después de los 65 años.

#### **Antecedentes nacionales.**

Se solicitó y reviso información y no se encontraron antecedentes nacionales acerca del tema en nuestro país.

## **CAPÍTULO II: MARCO REFERENCIAL**

### **Anatomía de páncreas y vía biliar extrahepática**

El páncreas es una glándula digestiva accesoria, se divide en cuatro porciones cabeza, cuello, cuerpo y cola, se ubica retroperitonealmente, posterior al estómago, entre el duodeno y el bazo. Produce: una secreción exocrina que es el jugo pancreático producido por las células acinares y que pasa al duodeno a través del conducto pancreático principal y accesorio, y secreciones endocrinas que son la insulina y el glucagón producidos por los islotes pancreáticos que se excretan a la sangre, según (Moore & Dalley, 2010).

Además, (Moore & Dalley, 2010) menciona que el conducto pancreático principal inicia en la cola del páncreas y discurre a lo largo del parénquima hasta la cabeza, donde se relaciona con el colédoco para unirse y formar la ampolla hepatopancreática que se desemboca en la porción descendente del duodeno. El esfínter del conducto pancreático, el esfínter del conducto colédoco, y el esfínter de la ampolla, son de músculo liso y controlan el flujo de bilis y de jugo pancreático hacia la ampolla e impiden el reflujo del contenido del duodeno a la ampolla. El conducto pancreático accesorio se comunica con el conducto pancreático principal y desemboca en el vértice de la papila duodenal menor.

(Moore & Dalley, 2010) hacen referencia a que la irrigación del páncreas deriva de ramas de la arteria esplénica que irrigan el cuerpo y la cola, de ramas de las arterias gastroduodenal y mesentérica inferior que irrigan la cabeza. El drenaje venoso es a través de las venas pancreáticas, tributarias de la rama esplénica y mesentérica superior de la vena porta hepática; la mayoría desembocan en vena esplénica. Los vasos linfáticos acompañan a los vasos sanguíneos y terminan en los nódulos pancreatoesplénicos y algunos en los nódulos linfáticos pilóricos. Los nervios proceden de los nervios vagos y esplácnicos abdominopélvicos.

Según (Arthur & Guyton, 2011) la secreción del jugo pancreático aumenta con respuesta a la presencia de quimo en la porción alta del duodeno; contiene múltiples enzimas, las proteolíticas son tripsina, quimiotripsina, carboxipolipeptidasa, la amilasa pancreática que digiere los hidratos de carbono, para la digestión de las grasas lipasa pancreática, colesterol esterasa y fosfolipasa. Los estímulos para la regulación de la secreción pancreática son la acetilcolina, colecistocinina y secretina.

La vía biliar extrahepática se compone de la vía biliar principal formada por la unión del conducto hepático derecho e izquierdo y de la vía biliar accesoria formada por el conducto cístico que se origina a partir del cuello vesicular y el colédoco que es la unión del conducto hepático común con el cístico, según (Moore & Dalley, 2010).

El conducto colédoco entra en contacto con el conducto pancreático principal, ambos discurren para formar la ampolla hepatopancreática; el músculo circular que rodea el extremo distal del colédoco se engruesa para formar el esfínter del conducto colédoco, cuando él se contrae la bilis no puede entrar en la ampolla ni en el duodeno y regresa a la vesícula biliar a través del cístico para ser concentrada y almacenada, según (Moore & Dalley, 2010).

(Moore & Dalley, 2010) refieren que la vesícula biliar es un reservorio fibromuscular que ocupa la fosa de la vesícula biliar en la cara visceral del hígado. Tiene aspecto piriforme, mide de 8 a 10 cm de longitud y su ancho máximo en el adulto es de 3 a 4 cm.

Además, según (Moore & Dalley, 2010) la irrigación de estas estructuras proviene de la arteria cística, la rama derecha de la arteria hepática propia, la arteria pancreatoduodenal superior posterior y la arteria gastroduodenal. El drenaje venoso de la porción proximal del conducto y de los conductos hepáticos entra directamente al hígado, mientras que la vena pancreatoduodenal

superior posterior drena en la vena porta. Los vasos linfáticos pasan hacia los nódulos linfáticos císticos, el nódulo del orificio omental y los nódulos hepáticos.

### **Patología de páncreas y vía biliar extrahepática**

Según (Robbins & Cotran, 2013) los cánceres de la vesícula biliar pueden tener un crecimiento exofítico o infiltrante. El patrón infiltrante es el más frecuente y suele aparecer como una zona mal delimitada de engrosamiento difuso con induración de la pared vesicular, que pueden abarcar varios centímetros cuadrados o afectar a toda la pared vesicular. Estos tumores son escirros y muy firmes.

El patrón exofítico crece hacia la luz como una masa irregular similar a una coliflor, pero, al mismo tiempo, infiltra la pared subyacente. La mayoría son adenocarcinomas, que pueden ser papilares o poco diferenciados. Aproximadamente el 5% son carcinomas epidermoides o muestran una diferenciación adenoescamosa y también existen infrecuentes tumores neuroendocrinos. Cuando se descubren los cánceres de vesícula biliar, la mayor parte de ellos han infiltrado el hígado o alcanzado los conductos biliares o los ganglios de la porta hepática, menciona (Robbins & Cotran, 2013).

Además, (Robbins & Cotran, 2013) dice que los colangiocarcinomas son adenocarcinomas típicos con presencia de glándulas más o menos formadas que se asocian a abundante estroma fibroso (desmoplasia), lo que confiere a estas lesiones una consistencia arenosa firme. No se identifican pigmento biliar ni inclusiones hialinas en las células tumorales, mientras que puede ser llamativa la presencia de mucina intracelular. Es responsable del 7,6% de las muertes por cáncer en todo el mundo y el 3% de las muertes por cáncer en Estados Unidos.

Dado que la obstrucción completa o parcial de los conductos biliares provoca ictericia con rapidez, los tumores de la vía biliar extrahepática suelen ser relativamente pequeños en el momento del diagnóstico, mientras que los tumores intrahepáticos pueden provocar síntomas solo cuando una gran parte del hígado es sustituida por tumor, según (Robbins & Cotran, 2013).

(Robbins & Cotran, 2013) hace referencia a que los colangiocarcinomas se pueden extender a localizaciones extrahepáticas, como ganglios regionales, pulmones, huesos y glándulas suprarrenales. La invasión siguiendo los nervios peribiliares es otra forma de diseminación por el abdomen. Los colangiocarcinomas tienen más tendencia a la extensión extrahepática que el

carcinoma hepatocelular. El 50-60% de todos los colangiocarcinomas son tumores perihilares, el 20-30% son tumores distales y el 10% son intrahepáticos. En cualquier caso, el pronóstico es desalentador, con supervivencias del 15% a los dos años del diagnóstico.

En el cáncer de páncreas aproximadamente el 60% de los cánceres pancreáticos surgen de la cabeza de la glándula, el 15%, del cuerpo, y el 5%, de la cola; en el 20% de los pacientes, la neoplasia afecta de forma difusa a todo el órgano. Los carcinomas pancreáticos suelen ser masas mal definidas, duras, estrelladas y de color gris blanco. La inmensa mayoría de los carcinomas son adenocarcinomas ductales y, en cierto grado, se parecen al epitelio ductal normal, con formación de glándulas y secreción de mucinas, según (Vaquero & Castells, 2005).

Dos hallazgos son característicos del cáncer pancreático: es extremadamente invasivo (incluso los cánceres pancreáticos invasivos «precoces» invaden los tejidos peripancreáticos de forma extensa) y desencadena una reacción intensa no neoplásica del huésped compuesta por fibroblastos, linfocitos y matriz extracelular (respuesta desmoplásica), según (Robbins & Cotran, 2013).

Además, la mayoría de los carcinomas de la cabeza del páncreas obstruyen el colédoco distal en su trayecto a través de la cabeza del páncreas. En el 50% de tales casos, hay una distensión marcada del árbol biliar y, típicamente, los pacientes presentan ictericia. Por el contrario, los carcinomas en el cuerpo y la cola del páncreas no afectan a las vías biliares y, por tanto, permanecen silentes durante algún tiempo. Pueden ser bastante grandes y estar muy diseminados en el momento en que se descubren, según (Vaquero & Castells, 2005).

Los carcinomas pancreáticos a menudo se extienden a través del espacio retroperitoneal, atrapando nervios adyacentes (es decir, produciendo dolor) y, ocasionalmente, invadiendo el bazo, las glándulas adrenales, la columna vertebral, el colón transversal y el estómago. Los ganglios linfáticos peripancreáticos, gástricos, mesentéricos, omentales y portohepáticos frecuentemente están afectados, y el hígado a menudo está agrandado por depósitos metastásicos. Las metástasis a distancia ocurren, principalmente, en los pulmones y los huesos, según (Robbins & Cotran, 2013).

(Robbins & Cotran, 2013) menciona que microscópicamente, el carcinoma pancreático habitualmente es un adenocarcinoma de moderada a escasamente diferenciado que forma

estructuras tubulares abortivas o grupos celulares y muestra un patrón de crecimiento infiltrante agresivo. La fibrosis estromal densa acompaña la invasión tumoral, y hay una tendencia a la invasión perineural dentro y fuera del órgano. La invasión linfática también se observa con frecuencia.

Además, según (Vaquero & Castells, 2005) otras variantes menos frecuentes de carcinoma pancreático son los carcinomas adenoescamosos con diferenciación escamosa focal, además de la glandular, y los carcinomas indiferenciados con células gigantes de tipo osteoclasto, que son de estirpe monocítica y se mezclan con la neoplasia.

### **Tipos histológicos de cáncer de páncreas**

Dentro de los tipos histológicos de cáncer de páncreas según (Robbins & Cotran, 2013) se encuentran:

#### **Cistoadenomas serosos**

Los cistoadenomas serosos representan cerca de una cuarta parte de todas las neoplasias quísticas pancreáticas. La mayor parte de los cistoadenomas serosos tienen mutaciones somáticas en el gen supresor de tumores de von Hippel Lindau (VHL), cuyo producto se une al factor 1 inducible por la hipoxia (HIF-1 $\alpha$ ) y permite su degradación.

Morfológicamente están compuestos de células cúbicas ricas en glucógeno que rodean pequeños quistes que contienen un líquido claro de color pajizo. Los tumores se presentan en la séptima década de la vida con síntomas inespecíficos, como dolor abdominal.

Estos tumores son en su mayoría benignos, pero la resección quirúrgica es curativa en la inmensa mayoría de los pacientes y su diagnóstico es mediante biopsia.

#### **Neoplasias quísticas mucinosas**

Estas neoplasias suelen localizarse en el cuerpo o la cola del páncreas, cursando como una masa indolora de crecimiento lento. Hasta un tercio de estos quistes se pueden asociar a un adenocarcinoma infiltrante.

Morfológicamente, los espacios quísticos se llenan de una mucina densa y tenaz, y los quistes son revestidos por un epitelio cilíndrico mucinoso con un estroma celular denso asociado (semejante al ovárico). En función del grado de atipia citológica y arquitectural del epitelio de revestimiento, los tumores quísticos mucinosos no invasivos se pueden dividir en displasia de bajo, moderado o alto grado.

La pancreatometomía distal consigue la curación en los quistes no invasivos, incluso en los que tienen una displasia grave.

### **Neoplasias mucinosas papilares intraductales**

Las neoplasias mucinosas papilares intraductales (NMPI) son neoplasias intraductales secretoras de moco. La NMPI se origina en los conductos pancreáticos principales o en una de las ramas principales y no presentan el estroma celular propio de las neoplasias quísticas mucinosas.

Hasta dos terceras partes de las NMPI presentan mutaciones oncógenas de GNAS en el cromosoma 20q13, que codifica la subunidad  $\alpha$  de una proteína G estimuladora, G<sub>s</sub>, lo que provoca una cascada intracelular que induce la proliferación celular.

Morfológicamente al igual que sucede en las neoplasias quísticas mucinosas, el epitelio de las NMPI no invasivas presenta grados variables de displasia y un subgrupo de lesiones se asocia a un componente de adenocarcinoma infiltrante.

El diagnóstico es por biopsia y se trata con cirugía.

### **Carcinoma pancreático**

Típicamente, los carcinomas pancreáticos permanecen silentes hasta que, en su extensión, llegan a alguna estructura. Menos del 20% de los cánceres de páncreas son resecables cuando se diagnostican. El curso clínico del carcinoma pancreático es una progresión rápida y muy breve.

Generalmente, el dolor es el primer síntoma, pero en ese momento ya es irreversible. La ictericia obstructiva puede asociarse a carcinoma de la cabeza del páncreas, pero rara vez es llamativa lo suficientemente pronto. La pérdida de peso, la anorexia y el malestar generalizado, así como la debilidad, son signos de enfermedad avanzada. La tromboflebitis migratoria

(síndrome de Trousseau) ocurre en cerca del 10% de los pacientes y se atribuye a la elaboración de factores de agregación plaquetaria y procoagulantes por parte del tumor o por sus productos necróticos.

Aunque las concentraciones séricas de muchas enzimas y antígenos (como el antígeno carcinoembrionario y CA19-9) estén elevadas, estos marcadores no son específicos ni sensibles como para emplearlos en el cribado selectivo.

Varias técnicas de imagen, como la ecografía endoscópica y la TC de alta resolución, resultan útiles para el estudio de los casos con sospecha de cáncer, pero no para el cribado selectivo.

### **Patogenia**

(Robbins & Cotran, 2013) hacen referencia que el cáncer de páncreas surge como consecuencia de una serie de mutaciones hereditarias y adquiridas en los genes asociados al cáncer. En un patrón similar al descrito en la progresión escalonada del cáncer de colon, se describe una acumulación progresiva de cambios genéticos en el epitelio pancreático durante su transformación desde un epitelio no neoplásico a una lesión precursora no infiltrante y a un carcinoma infiltrante.

Aunque tanto las NMPI (Neoplasias Mucinosas Papilares Intraductales) como las neoplasias quísticas mucinosas pueden evolucionar a adenocarcinoma infiltrante y son consideradas precursores evidentes del cáncer (como ya se ha indicado), la lesión precursora más frecuente del carcinoma pancreático se origina en los conductos pequeños y en los conductillos, y se llama neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN, del inglés pancreatic intraepithelial neoplasias).

Entre las pruebas que lo relacionan como precursor de la PanIN y del tumor maligno franco se encuentran que, con frecuencia, se identifican lesiones de este tipo microscópicas en zonas adyacentes a tumores infiltrantes y que ambas comparten una serie de alteraciones genéticas. Además, las células epiteliales de la PanIN tienen un acortamiento muy llamativo de los telómeros, lo que parece predisponer a estas lesiones a acumular otras anomalías cromosómicas mientras se convierten en carcinomas infiltrantes.

La reciente secuenciación del genoma del carcinoma pancreático ha confirmado que cuatro genes son los que con más frecuencia resultan afectados por las mutaciones somáticas en esta neoplasia: KRAS, CDKNA2A/p16, SMAD4 y TP53:

KRAS es el oncogén que con más frecuencia se altera en el cáncer pancreático. Se activa por una mutación puntual en el 80-90% de los casos. Estas mutaciones alteran la actividad de la guanosina trifosfatasa (GTPasa) intrínseca de la proteína Kras, lo que determina su activación constitutiva.

A su vez, Kras activa una serie de vías de transmisión de señales intracelulares («efectoras de Kras»), que inducen la carcinogénesis.

El gen p16 (CDKN2A) es el gen supresor de tumores más frecuentemente inactivado en el cáncer pancreático, y está suprimido en el 95% de los casos. La proteína p16 tiene una función crítica en el control del ciclo celular; su inactivación elimina un punto de control importante.

El gen supresor de tumores SMAD4 está inactivado en el 55% de los cánceres pancreáticos y solo rara vez en otros tumores; codifica una proteína que desempeña una importante función en la transducción de señales en la vía del receptor del TGF- $\beta$ .

El gen supresor de tumores TP53 se inactiva en el 50-70% de los carcinomas pancreáticos. Su producto, la proteína p53, actúa reforzando los puntos de control del ciclo celular, así como induciendo la apoptosis o senescencia.

Las mutaciones de VHL o GNAS, encontradas en los quistes pancreáticos descritos antes, no se han observado en el adenocarcinoma ductal y justifican la amplia diferencia entre la histopatología y la evolución natural de estos dos procesos. Se desconoce la causa de los cambios moleculares. El carcinoma pancreático afecta, principalmente, a los ancianos, y el 80% de los casos aparecen entre los 60 y los 80 años de edad. La influencia medioambiental más potente es el tabaquismo, que duplica el riesgo.

La pancreatitis crónica y la diabetes mellitus se han asociado también a un aumento del riesgo de desarrollar cáncer de páncreas, pero resulta difícil determinar si la pancreatitis crónica es la causa del cáncer o un efecto de esta enfermedad, dado que un carcinoma pancreático pequeño puede bloquear el conducto pancreático y ocasionar una pancreatitis crónica. Por otro lado, actualmente se considera que la inflamación crónica facilita la malignidad.

Tampoco está clara la posible relación entre la diabetes mellitus y el cáncer de páncreas, dado que la primera puede desarrollarse como consecuencia de este tipo de tumores y, de hecho, una diabetes de reciente aparición en un anciano puede ser el primer signo de este tumor maligno. Se ha descrito agregación familiar del cáncer de páncreas y, actualmente, se reconoce que un número creciente de defectos genéticos hereditarios aumentan el riesgo de sufrir este tumor.

### **Tipos histológicos de cáncer de vía biliar extrahepática**

Entre los tipos de cáncer que afectan la vía biliar extrahepática según (Robbins & Cotran, 2013) tenemos:

#### **Carcinoma de vesícula biliar**

El cáncer de vesícula biliar es una enfermedad poco frecuente en la que se encuentran células malignas o cancerosas en los tejidos de la vesícula biliar. Es el proceso maligno más frecuente de las vías biliares extrahepáticas. El factor de riesgo más importante asociado a este carcinoma es la litiasis biliar o colelitiasis y el género femenino.

En su morfología, este tipo de cáncer puede presentar dos patrones de crecimiento: infiltrante y exofítico. El patrón infiltrante es el más frecuente, puede aparecer como una zona mal diferenciada de engrosamiento difuso e induración de la pared de la vesícula, puede cubrir varios centímetros cuadrados o afectarla completamente. Puede haber metástasis ya que la ulceración profunda puede causar la penetración directa de la pared de la vesícula biliar o la formación de una fístula hacia vísceras y estructuras adyacentes como hígado, peritoneo, tubo digestivo, pulmón, conducto cístico. Son tumores escirros de consistencia muy firme.

El patrón exofítico se define así porque crece hacia la luz como una masa irregular (forma de coliflor), pero al mismo tiempo invade la pared subyacente. En la porción luminal esto puede ser necrótico, hemorrágico y ulcerado. Afecta más el fondo y el cuello y un mínimo porcentaje a las paredes laterales.

La mayoría de estos carcinomas son adenocarcinomas. Algunos carcinomas tienen una arquitectura papilar (son los de mejor pronóstico) y son bien o moderadamente diferenciados, otros son infiltrantes y poco diferenciados o indiferenciados. El 5% son carcinomas epidermoides o tienen diferenciación escamosa. Una minoría muestra características carcinoideas o mesenquimatosas de distintos tipos (carcinosarcoma).

El diagnóstico preoperatorio de este carcinoma se presenta en menos del 20% de los casos. Los síntomas son insidiosos e indistinguibles de los asociados a colelitiasis: dolor abdominal, ictericia, anorexia, náuseas y vómitos. La detección precoz del tumor es posible en aquellos pacientes que desarrollan una vesícula palpable y colecistitis aguda antes de la extensión del tumor o cuando el carcinoma es un hallazgo casual de una colecistectomía por litiasis biliar sintomática.

El único tratamiento eficaz es la resección quirúrgica, a veces incluido el hígado adyacente y también se usa la quimioterapia.

### **Colangiocarcinoma**

Es en frecuencia el segundo tumor hepático maligno más común. Los factores de riesgo para su desarrollo incluyen la colangitis esclerosante primaria, enfermedades fibropoliquísticas congénitas del árbol biliar como los quistes del colédoco. Las formas extrahepáticas comprenden tumores perihiliares conocidos como tumores de Klatskin, que se localizan en la unión entre los conductos hepáticos derecho e izquierdo dando lugar a los tumores del conducto hepático común y de las vías biliares distales. Un subgrupo de los tumores distales surge cerca de la ampolla de Vater (también denominados carcinomas periambulares).

Se presentan con síntomas de obstrucción biliar, colangitis y dolor en el cuadrante superior derecho.

En su morfología, son lesiones pequeñas al momento del diagnóstico. En su mayoría aparece como nódulos firmes de color gris en el interior de la pared de la vía biliar. Algunos se presentan como lesiones infiltrantes difusas, otros como lesiones polipoides papilares. La mayoría son adenocarcinomas que además, pueden segregar o no mucina, muy pocos presentan características epidermoides. En su mayoría, la proliferación epitelial se acompaña de estroma fibroso abundante. Los tumores de Klatskin tienen un crecimiento más lento, mostrando fibrosis prominente y con metástasis a distancia infrecuentes.

En su patogenia se señalan varias vías, entre ellas la sobreexpresión de la IL-6 que conduce a la activación del AKT y las proteínas MCL-1 antiapoptósicas, también el aumento en la expresión de COX-2, ERB-2 y c-MET. Otras posibilidades se refieren a la amplificación de los

receptores del factor de crecimiento epidérmico y a la disminución de la expresión del regulador del ciclo celular y del supresor tumoral p16/ink4A.

El diagnóstico es citológico y se están empezando a usar la hibridación in situ con fluorescencia específica para los receptores del factor de crecimiento epidérmico y el análisis de imágenes digitales que mejoran la exactitud diagnóstica.

El único tratamiento que es potencialmente curativo es la cirugía cuando es posible realizarse.

## CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

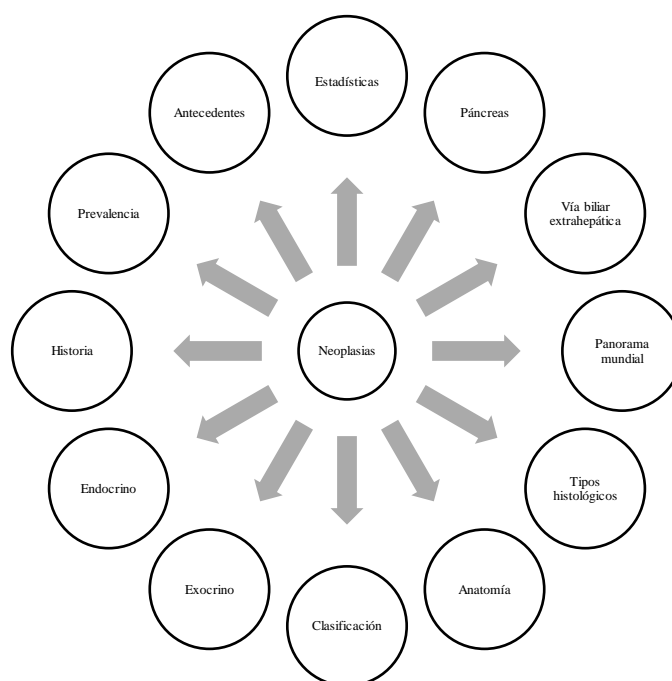
### Diseño

Este no es un estudio original, es un diseño documental de tipo revisión bibliográfica.

### Restricciones y limitaciones

No se encontraron datos estadísticos ni estudios del tema a nivel nacional, los antecedentes internacionales son pocos y repetidos, la revisión se limitó a tipos histológicos de cáncer de páncreas y vías biliares extrahepáticas por lo tanto no se discuten los referentes a vías biliares intrahepáticas, se excluyeron los estudios anteriores al año 2012.

### Palabras claves utilizadas en la búsqueda



### Fuente de datos

Electrónicas: Google, ESMO, PudMed.

Físicas: libros

Bibliotecas: BINASS

### Criterios

Se utilizaron artículos actualizados de los últimos cinco años (2012-2016), incluyendo los de diseño transversal, acerca de los tipos histológicos de cáncer de páncreas y vía biliar extrahepática.

## CAPÍTULO IV: ANALISIS Y RESULTADOS

Se muestran aquí estudios relacionados con los tipos histológicos de neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática. Para lo anterior, se presentan primero los artículos más relevantes, y luego otros se indican de forma resumida.

### 4.1 Estudios más relevantes

#### 4.1.1 Estudio 1

**Witkiewicz y otros (2015)** manifiestan que el adenocarcinoma ductal pancreático augura un pronóstico desfavorable, con una tasa de supervivencia a 5 años de ~ 6%). El mal resultado se relaciona con múltiples factores, que incluyen la etapa relativamente tardía del diagnóstico, muchos pacientes con enfermedad no resecable y recalcitación de la terapia que resulta en la recurrencia de la enfermedad a pesar de la enfermedad operable y la terapia sistémica

El análisis genético de PDA arrojó ideas relacionadas con las vías de señalización alteradas; sin embargo, a diferencia de otros cánceres, el número de genomas de PDA secuenciados ha sido relativamente modesto. Esto refleja la dificultad de secuenciar un tumor que está dominado por la presencia de células estromales e inflamatorias.

Indican Witkiewicz y otros (2015) que la celularidad tumoral en muestras sometidas a secuenciación de genoma completo o exoma representa una barrera conocida para obtener datos de alta calidad; por lo tanto, muchos estudios recomendaron > 60% de contenido de células tumorales en las muestras. Los autores expresan que para facilitar la detección de mutaciones y eliminar el tejido no neoplásico contaminante, el esfuerzo inicial de secuenciación de PDA empleó xenoinjertos derivados de pacientes y líneas celulares. Este enfoque da como resultado la detección de un promedio de 48 mutaciones somáticas por secuencia de modelo. El trabajo posterior empleó la secuenciación del exoma en 99 casos clínicos de PDA y aplicó el algoritmo q-puro para superar la contaminación con tejido no neoplásico, produciendo un promedio de 26 mutaciones por caso [4](#).

Aquí Witkiewicz y otros (2015) analizan 109 casos de PDA con microdissección anotados con datos de resultados que se sometieron a secuenciación de todo el exoma. Los datos de este análisis demuestran que existe una diversidad genética sustancial dentro de PDA con una frecuencia de mutación comparable a otros tumores sólidos. Las alteraciones en los espectros de mutación y la carga están asociadas con factores de riesgo de cáncer pancreático característicos. La mayor variación en el número de copias indicativa de inestabilidad cromosómica se asocia con un resultado deficiente. La amplificación del locus que involucra el oncogén *MYC* se asocia específicamente con un resultado deficiente y una asociación con el subtipo adenocarcinoma de PDA. En contraste, selección de genes mutados (por ejemplo, *RBM10*) se asocian con una mayor supervivencia del paciente. La diversidad dentro de la vía de señalización de *KRAS* canónica definió las características pronósticas de la enfermedad y el potencial de la terapia dirigida de los casos mutados en *BRAF*. Las mutaciones y las alteraciones en el número de copias frecuentemente involucraron importantes vías de señalización que contribuyen al desarrollo del tumor y representan objetivos terapéuticos.

### **Enriquecimiento de células tisulares y carga de mutación.**

Para mejorar la celularidad tumoral en muestras de pacientes con PDA, se empleó la disección con aguja para enriquecer significativamente las células tumorales PDA del microentorno circundante. Este enfoque se aplicó a un total de 109 casos de APD resecados quirúrgicamente anotados con resultados clínicos y características etiológicas.

Como dicen Witkiewicz y otros (2015), la cohorte tuvo una supervivencia media de 21 meses que es consistente con la supervivencia histórica de la PDA resecada. De las características patológicas estándar, el grado 3 se asoció con un resultado deficiente, mientras que el estado nodal y el subtipo adenocarcinoma tendieron hacia un resultado deficiente. Se utilizaron células tumorales enriquecidas como sustrato para la secuenciación de todo el exoma (métodos). Pureza media tumor superó el 50% y la profundidad de secuenciación promedio fue de  $\sim 50\times$ .

En estudios previos que secuenciaron PDA, se detectaron 26 mutaciones por caso que representan una carga mutacional relativamente baja en comparación con la mayoría de los tumores sólidos). La carga de mutación promedio observada en nuestra cohorte fue de 67 eventos

no sinónimos por caso, equivalente a muchos otros tipos de tumores. La secuenciación de Sanger se usó para validar 248 eventos genéticos con validación ocurriendo en el 92% de los casos. Además, la inmunohistoquímica p53 realizada en la cohorte demostró la fuerte correlación esperada entre la mutación de *TP53* y la estabilización de la proteína. Para determinar si la secuencia más profunda aumentaría aún más el número de mutaciones detectadas, 21 casos se secuenciaron para  $\sim 120 \times$  profundidad. La mayoría de los eventos identificados con una secuenciación más profunda tenían una frecuencia alélica baja o profundidad de cobertura, y solo se identificó una pequeña fracción de mutaciones estadísticamente significativas

### **Determinantes de la carga de mutación y del espectro.**

De acuerdo con las observaciones en otras neoplasias malignas sólidas, los casos con la carga mutacional relativa más alta albergan lesiones genéticas en genes de reparación de desajustes, que se sabe que están asociados con un fenotipo mutador). Estos casos también mostraron un espectro de mutación compatible con la deficiencia de reparación de desajustes, transición T> C en los tri-nucleótidos CTG. Los espectros mutacionales globales de la cohorte PDA estaban dominados por mutaciones C> T asociadas con la edad, y tenían una evidencia mínima de mutagénesis asociada a APOBEC enriquecida en los tri-nucleótidos de TCW.

Witkiewicz y otros (2015) mencionan que por agrupamiento jerárquico fue evidente que los espectros mutacionales variables de casos de PDA individuales especificaban subtipos discretos. El estado de fumar se asoció con un enriquecimiento de C> A, que se asemejaba a la "firma de fumar" mutacional observada en otros cánceres para los cuales fumar es un factor de riesgo significativo. En general, los fumadores tuvieron un resultado deficiente, con una supervivencia media de la mitad de la de los no fumadores. Por lo tanto, los eventos etiológicos asociados con el desarrollo de PDA se identificaron de manera identificable con el espectro mutacional de los tumores.

### **Variación del número de copias y el papel de MYC**

El agrupamiento de propagación por afinidad (APC) se usó para delinear patrones determinísticos de características comunes asociadas con alteraciones del número de copias (panel izquierdo) y particiones de casos en subtipos discretos con complejidad genética

creciente. Los casos con altos niveles de amplificaciones / deleciones (grupos 5 y 6) tuvieron una representación excesiva significativa de las alteraciones de los genes implicados en la reparación de la rotura del ADN, pero no de *TP53*.

Indican Witkiewicz y otros (2015) dicen que observaron resultados similares con los métodos de agrupamiento jerárquico estándar basados en la distancia euclidiana). Tanto el grupo 5 como el 6 tuvieron un mal resultado en relación con otros grupos con menos cambios en el número de. El análisis GISTIC definió regiones comunes significativas de amplificación y eliminación que albergan múltiples oncogenes (por ejemplo, *MYC* y *CCND1*) y supresores de tumores (por ejemplo, *SMAD4* y *CDKN2A*).

El interrogatorio de las regiones amplificadas y eliminadas para la asociación con la supervivencia reveló que la amplificación del locus 8q24, que alberga el oncogén *MYC*, se asoció únicamente con un resultado deficiente. Mientras que *MYC* se ha demostrado que la sobreexpresión facilita el desarrollo del cáncer de páncreas en modelos de ratón, pero se ha realizado poco análisis en muestras de pacientes. La amplificación de *MYC* se confirmó mediante hibridación *in situ* fluorescente.

Los casos amplificados de *MYC* expresan Witkiewicz y otros (2015) no tenían una mayor carga de mutación o asociación con otras mutaciones distintivas de PDA; sin embargo, la amplificación fue significativamente representada en exceso en el subtipo adenoescamoso del carcinoma pancreático. La evaluación de las lesiones precursoras neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN) asociada con enfermedad invasiva también reveló amplificación de *MYC*. Estos datos sugieren un papel de *MYC* en la iniciación y progresión de esta forma extremadamente agresiva de PDA. De acuerdo con esta observación, en un modelo de cáncer de páncreas con ratón impulsado por *MYC*, los tumores mostraron una histología adenoescamosa y se tiñeron positivamente para p63, un marcador establecido de diferenciación escamosa.

### **Genes significativamente mutados en el cáncer de páncreas**

Witkiewicz y otros (2015) afirman que usaron el análisis MutSigCV de 109 PDA / pares de tejidos normales reveló 24 genes mutados significativos que ocurren en > 3.5% de los casos. Para comparación, un análisis similar realizado utilizando datos del esfuerzo de

secuenciación anterior [4](#) reveló solo cuatro mutaciones no sinónimas. La identificación de *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A* y *SMAD4* confirmó que nuestro enfoque detectó alteraciones conocidas que promovían la tumorigénesis de PDA. Las mutaciones de *GNAS* estaban presentes en los cuatro carcinomas coloides y dos PDA convencionales.

La mayoría de las mutaciones de *GNAS* estaban en el codón de punto de acceso 201 (R201C y R201H)). De acuerdo con los estudios recientes, todos los casos de carcinoma invasivo mutado por *GNAS* se derivaron de un precursor común, la neoplasia pancreática intraductal (IPMN). Cuatro de los seis PDA que albergan alteración de *GNAS* tenían mutaciones concomitantes en *KRAS*. Otros dos genes reportados como mutados en IPMN, *RNF43* y *RBM10*, fueron detectados en seis y cuatro casos de PDA convencionales, respectivamente. En particular, los PDA que albergan alteraciones de *RNF43* y *RBM10* no surgieron de IPMN y no hubo asociación entre estos genes y *GNAS* mutaciones en esta cohorte. También se identifica una serie de 'genes de cáncer' como mutados significativamente en PDA, incluyendo *BCLAF1* (5% de los casos), *IRF6* (4% de los casos), *FLG* (10% de los casos), *AXINI* (5% de los casos), *GLI3* (6% de los casos) y *PIK3CA* (4% de los casos).

### **Vías frecuentemente mutadas en el cáncer de páncreas**

Además de la heterogeneidad dentro de la ruta central de *KRAS*, se detectaron múltiples vías adicionales que fueron alteradas genéticamente a alta frecuencia (> 20%) en PDA. Específicamente, se halló que la ruta del TGF- $\beta$  se interrumpe a través de una combinación de eventos en gran parte mutuamente exclusivos, además de la frecuente interrupción de *SMAD4*. Esto incluye la pérdida de *TGFBR2* / *TGFBR1*, así como las mutaciones en *ACVR1B*, que es un gen asociado al cáncer recientemente identificado en la ruta.

Del mismo modo, en concierto con eliminación frecuente de *CDKN2A* y *CDKN2B*, *CDK4* y *CCND1* amplificación y la pérdida de *RBI* se observó en la vía de RB. Entre las vías de señalización, las vías beta-catenina y NOTCH mostraron frecuentes alteraciones indicativas de activación oncogénica. Se observó que los genes de anemia de Fanconi múltiple, así como *ATM*, *CHEK2*, *BCLAF1*, *BRCA1* y *BRCA2* se mutaron o eliminaron a una frecuencia relativamente alta con alteraciones dirigidas a alguna faceta de la reparación del ADN que ocurre en > 35% de los

casos. Las lesiones genéticas en la remodelación de la cromatina SWI / SNF vía ocurrió en el 42% de los casos.

Además de estas vías bien descritas, Witkiewicz y otros (2015) observan frecuentes aberraciones que inciden en la modificación de las histonas y en la vía FAT / HIPPO. Cada vía fue interrogada para su asociación con el resultado. Solo las vías asociadas con la reparación del ADN tuvieron una tendencia hacia un mal resultado, mientras que la señalización de beta-catenina tendió hacia un mejor resultado. En general, las asociaciones entre las vías fueron limitadas según lo determinado por la correlación de Pearson.

El agrupamiento de bosque aleatorio y APC se usó para definir los subtipos de PDA en función de las vías alteradas, y demostró una diversidad marcada de combinaciones de vías desreguladas. Mientras que los tumores con alteraciones aisladas de la vía KRAS solas o en combinación con TP53 tienen un pronóstico desfavorable, los tumores con desregulaciones de vías más complejas tendieron a resultados aún más pobres. Muchas de las vías resaltadas representan objetivos terapéuticos que son accionables en modelos preclínicos y, en algunos casos, en la clínica.

Por ejemplo, para Witkiewicz y otros (2015) BRAF V600E ha demostrado ser un objetivo potencial en el melanoma y otros tipos de cáncer. La pérdida de *RNF43* o *AXINI* está asociada con la sensibilidad a los inhibidores de puercoespín y tanquesas que se dirigen a la vía de la beta-catenina, mientras que la eliminación de *CDKN2A* o la amplificación de *CDK4* / *CCND1* confieren sensibilidad a los inhibidores de CDK4 / 6. Las deficiencias en los genes de anemia de Fanconi pueden ser atacadas por agentes de reticulación, un hallazgo observado fácilmente en líneas celulares que albergan una eliminación homocigótica de *FANCF*. De manera similar, la pérdida de la función BRCA está asociada con la respuesta a los inhibidores de PARP. Varias de estas alteraciones genéticas permanecen accionables en presencia de una mutación KRAS activadora y podrían brindar la oportunidad de una terapia genéticamente dirigida en PDA.

## Discusión

En total, los datos en este documento demuestran que la PDA es una enfermedad genéticamente diversa que alberga una carga mutacional similar a otras neoplasias malignas sólidas. Debido al enfoque de enriquecimiento utilizado, se identifican múltiples genes mutados significativamente que no se han descrito previamente en PDA y brindan información genética sobre la etiología, las características pronósticas y las posibles dianas terapéuticas.

Los factores de riesgo para la PDA incluyen el hábito de fumar y los déficits en la reparación de la falta de coincidencia del ADN, como lo ejemplifica el Síndrome de Lynch. Se observa que el estado de fumador en PDA se asoció con espectros de mutación similares a otros tumores asociados con el hábito de fumar. También encontramos que los casos seleccionados exhiben un fenotipo "mutador", lo que sugiere una contribución de la deficiencia de reparación de desajuste en la tumorigénesis.

En el análisis del número de copias, se identifican muchas regiones previamente identificadas por CGH y otros métodos. En general, los tumores con más alteraciones en el número de copias (indicativo de inestabilidad cromosómica) exhibieron mutaciones en los genes de reparación de la rotura del ADN y tuvieron una tendencia hacia un mal pronóstico. Es importante destacar que se entró que la amplificación de *MYC* se asociaba con un mal pronóstico y una histología adenoescamosa. No identificamos mutaciones en la *UPFI*, que recientemente se ha informado de que están mutadas selectivamente con alta frecuencia en el carcinoma adenoescamoso pancreático. A pesar de una encuesta exhaustiva e imparcial de amplicones / regiones eliminadas, solo un locus (*MYC*) se asoció con el resultado; sin embargo, claramente existe una variación en la magnitud general de las alteraciones en el número de copias, lo que sugiere que quizás haya distintos impulsores para la inestabilidad cromosómica observada en la PDA.

Mediante el uso de MutSigCV y el análisis de vías, se identificaron múltiples genes y vías alteradas a alta frecuencia, un subconjunto de los cuales se asoció con la supervivencia. *ARIDIA* se confirmó como un marcador de peor resultado con una cohorte independiente, y la mutación *RBM10* se asoció con una mayor supervivencia.

También se descubrió una serie de alteraciones novedosas *aunque* raras en las vías de señalización importantes en la biología de PDA. Si bien la pérdida de *CDKN2A* es común en

PDA y contribuye a la progresión del ciclo celular aberrante, la pérdida de la amplificación de *RBI* o *CCND1* no se ha informado previamente.

En los tumores PDA que albergan *KRAS* de tipo salvaje, identificamos *BRAF* y *PIK3CA* mutaciones en puntos de acceso oncogénicos que expanden el espectro de los conductores oncogénicos en PDA. Es importante destacar que una línea celular desarrollada a partir de PDA mutada con *BRAF* V600E era tan sensible como las células de melanoma al inhibidor de *BRAF* PLX-4032 aprobado por la FDA. Además de estos eventos raros, potencialmente viables clínicamente, varias vías que fueron alteradas genéticamente a alta frecuencia (> 20%) en nuestro estudio podrían producir sensibilidades terapéuticas selectivas. Las lesiones genéticas dirigidas a alguna faceta de la reparación del ADN o la remodelación de la cromatina SWI / SNF se produjeron en > 35% y 42% de los casos de APD, respectivamente. La alteración en la vía de WNT / beta-catenina fue común e incluyó la pérdida de RNF43 o AXIN1 que confiere sensibilidad a los inhibidores de puercoespín y de tankyrase.

Juntos, este marco genético ampliado de PDA revela la complejidad de la enfermedad que contribuirá a los esfuerzos futuros de modelado de la enfermedad y la estratificación del paciente para el tratamiento.

### **Recolección de tejidos y microdissección.**

Todos los tejidos se recolectaron dicen Witkiewicz y otros (2015) según los protocolos aprobados de la Junta de Revisión Institucional de la Universidad Thomas Jefferson y la Junta de Revisión Institucional del Centro Médico de UT Southwestern que requieren el consentimiento informado de todos los pacientes. Los casos representaron diversos subtipos histológicos, incluyendo coloides ( $n = 4$ ), adenosquamous ( $n = 11$ ) y carcinoma ductal, NOS ( $n = 94$ ). La mayoría de los tumores analizados fueron estadio I ( $n = 5$ ) o II ( $n = 97$ ); el resto fue estadio III ( $n = 6$ ) o IV ( $n = 1$ ). Para el caso del tejido del estadio IV se analizó el tumor pancreático primario.

Se cortaron portaobjetos de aproximadamente 7  $\mu$ M de tejido congelado y se tiñeron ligeramente con hematoxilina. Las células epiteliales tumorales se diseccionaron manualmente utilizando una aguja de calibre 14 bajo un microscopio de disección (Leica Microsystems). El

ADN se extrajo utilizando el kit QIAamp DNA Mini Kit. Entre 500 ng y 1.5 µg de ADN tumoral enriquecido se recuperaron de cada caso. El análisis de la mutación KRAS y otras mutaciones asociadas a tumores demostró que la celularidad tumoral promedio es > 50%. El ADN de la línea germinal se obtuvo a partir de tejido normal resecado en la cirugía ( $n = 105$ ) o en sangre periférica ( $n = 4$ ).

### **Control de calidad y secuenciación del ADN.**

El ADN recuperado, especifican Witkiewicz y otros (2015) se cuantificó mediante Nanodrop y Qubit utilizando procedimientos estándar. La integridad del ADN genómico fue confirmada por electroforesis en gel. Un total de 109 pares tumor / normal pasaron el control de calidad para avanzar en la secuenciación de todo el exoma. TruSeq Exome Enrichment (FC-121-1048) y Nextera Exome Enrichment (FC-140-1003) se utilizaron para construir las bibliotecas de secuenciación según el protocolo del fabricante. El ADN se sometió luego a una secuenciación de todo el exoma de extremo emparejado utilizando instrumentos Illumina HiSeq2500.

Las lecturas de secuencia se alinearon con el genoma humano (Build-UCSC hg19) utilizando el algoritmo de alineación BWA. Se observó una profundidad de secuencia general de  $51,28 \times$  (intervalo de confianza (IC) del 95%: 49,5 y 53,1) para los casos secuenciados, y representó el 99,26% (IC del 95%: 99,20–99,31%) de las secuencias diana. En todas las secuencias diana, el 91,51% (IC 95%: 90,97–92,05%) tuvo una cobertura de lectura de más de 15, y en promedio se secuenciaron  $2.178 \times 10^9$  bases por caso. Para 21 casos, la profundidad de la secuenciación se duplicó con un número promedio de  $5.523 \times 10^9$  secuencias secuenciadas por caso. El promedio de cobertura de los pliegues fue de 123.01 (IC 95%: 115.4-130.6). A través de las secuencias de destino, el 94,74% (95% CI: 93.41–96.07) tuvo > 15 lecturas de cobertura. Con la secuenciación más profunda se descubrieron relativamente pocas mutaciones adicionales. La mayor profundidad sirvió en gran medida para detectar mutaciones con baja cobertura de secuencia y frecuencia de alelos.

### **Resumen**

El adenocarcinoma ductal pancreático (PDA, por sus siglas en inglés) tiene un pronóstico sombrío y se necesitan conocimientos sobre la etiología de la enfermedad y la intervención dirigida. Un total de 109 casos de PDA con microdissección se sometieron a secuenciación de todo el exoma. La microdissección enriquece la celularidad del tumor y mejora la llamada a la mutación.

Aquí se mostró que el estrés ambiental y las alteraciones en los genes de reparación del ADN se asocian con distintos espectros de mutación. Las alteraciones del número de copias se dirigen a loci supresores de tumores múltiples / oncogénicos; sin embargo, la amplificación de MYC está asociada de forma única con un resultado deficiente y un subtipo adenoescamoso. Identificamos múltiples genes novedosos mutados en PDA, con genes seleccionados que albergan un significado pronóstico.

Las mutaciones de RBM10 se asocian con una mayor supervivencia a pesar de las características histológicas de la enfermedad agresiva. Se observan mutaciones KRAS en > 90% de los casos, pero los alelos del codón Q61 se asocian selectivamente con una mejor supervivencia. Las mutaciones oncogénicas BRAF se excluyen mutuamente con KRAS y definen la sensibilidad a vemurafenib en modelos PDA. Se observan alteraciones de alta frecuencia en la señalización de Wnt, remodelación de la cromatina, señalización de Hedgehog, reparación de ADN y procesos del ciclo celular. Juntos, estos datos delimitan la nueva diversidad genética de PDA y proporcionan información sobre los determinantes pronósticos y las dianas terapéuticas.

#### **4.1.2 Estudio 2**

**Amundadottir (2016)** manifiesta que si bien los métodos de análisis de ligamiento y secuenciación (gen candidato, exoma o genoma completo) han tenido éxito en la identificación de mutaciones de la línea germinal en los genes de susceptibilidad al cáncer de alto riesgo que influyen en el riesgo de cáncer pancreático, estos métodos son menos adecuados para la identificación de la variación de la línea germinal común que se infiere. Bajo riesgo para los transportistas.

El enfoque utilizado con éxito en la última década para descubrir esta clase de alelos de susceptibilidad para muchas enfermedades y rasgos para Amundadottir (2016) ha sido el escaneo

de cientos de miles a millones de variantes de la línea germinal (en su mayoría polimorfismos de nucleótido único, SNP) en todo el genoma utilizando microarreglos. Estas exploraciones, denominadas Genome Wide Association Studies (GWAS), son enfoques de mapeo genético agnósticos realizados en un gran número de casos de casos y controles y, debido al aspecto de múltiples pruebas,  $P < 1 \times 10^{-8}$  o  $5 \times 10^{-8}$ ) y validación en conjuntos de muestras independientes. En particular, debido al diseño de estos estudios, el enfoque GWAS identifica una variación de la línea germinal que, en la mayoría de los casos, no es codificante y, por lo tanto, no altera las secuencias de aminoácidos de las proteínas, sino que puede influir en la expresión de genes ubicados cerca o incluso a una distancia considerable.

Los primeros GWAS de cáncer de páncreas dice Amundadottir (2016) fueron realizados por el Consorcio de Cohorte de Cáncer de Páncreas (PanScan) y el Consorcio de Control de Casos de Cáncer de Páncreas (PanC4) con el objetivo de identificar marcadores de susceptibilidad comunes para esta enfermedad mortal. Se han informado cuatro fases de GWAS: PanScan I en 2009, PanScan II en 2010, PanScan III en 2014 y PanC4 en 2015.

Las primeras dos fases de PanScan consistieron en doce estudios de casos y controles anidados dentro de estudios de cohorte prospectivos y ocho estudios de casos y controles, incluidos 3,851 pacientes diagnosticados con adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) y 3,934 sujetos control de ascendencia europea.

De acuerdo con Amundadottir (2016) se identificaron cuatro loci de riesgo de cáncer pancreático significativos en todo el genoma: cromosoma 9q34.2 (en el gen del grupo sanguíneo *ABO*), 1q32.1 (en *NR5A2*), 5p15.33 (en la región del gen *CLPTMIL - TERT*) y 13q22.1 (en una gran región no *genérica* flanqueada por *KLF5* y *KLF12*). La tercera fase de PanScan (PanScan III) agregó 1.582 casos de cáncer pancreático de genotipo nuevo y 5.203 sujetos control con replicación en muestras del consorcio de casos y controles PANDORA europeo, que dio como resultado un total de 7,683 casos y 14,397 sujetos control, agregando 5 GWAS significativos (y un sugestivo) loci de riesgo en los cromosomas 5p15.33 (segundo locus de riesgo independiente en el *CLPTMIL*-región del gen *TERT*), 7q23.2 (*LINC - PINT*), 16q23.1 (*BCARI*), 13q12.2 (*PDX1*), 22q12.1 (*ZNRF3*) y 8q24.1 (nongenic).

El GWAS más reciente, dirigido por PanC4, agregó 4,164 casos de cáncer de páncreas recién escaneados y 3,792 sujetos de control. Con las fases de replicación, incluyó un total de 9,925 casos y 11,569 sujetos de control de ascendencia europea (incluidos PanScan I y II). Después de la replicación de los principales éxitos de la etapa I en PANDORA, se descubrieron cuatro nuevos loci GWAS significativos en los cromosomas 17q24.3 (*LINC00673*), 2p14 (*ETAA1*), 7p14.1 (*SUGCT*) y 3q28 (*TP63*)<sup>60</sup>. Por lo tanto, un total de 13 loci riesgo de línea germinal común que han alcanzado un umbral de significación GWAS ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) están actualmente conocido por el riesgo de cáncer de páncreas en poblaciones de ascendencia europea.

**Cromosoma 1q32.1 / NR5A2**. El más significativo GWAS SNP en los mapas chr1q32.1 al primer intrón del *NR5A2* gen (rs3790844, OR = 0,77,  $P = 2.5 \times 10^{-10}$ ). Este gen codifica el miembro 2 del grupo A de la subfamilia 5 (NR5A2) del receptor nuclear, a veces denominado homólogo-1 del receptor del hígado (LRH-1). El NR5A2 es un factor de transcripción que desempeña funciones importantes en múltiples aspectos del desarrollo y la función pancreática, incluida la síntesis de colesterol, la homeostasis del ácido biliar, la esteroidogénesis y la regulación de la rigidez<sup>64</sup>. Del mismo modo, el NR5A2 es un importante regulador de la función exocrina en el páncreas adulto, donde regula la expresión de varios genes específicos del acinar<sup>65</sup>. Se requiere *Nr5a2* para el desarrollo embrionario temprano y los ratones que carecen de ambas copias de *Nr5a2* mueren en el día embrionario.

Sin embargo, los ratones heterocigotos *Nr5a2* son viables y exhiben mayores tasas de acinar pancreático a metaplasia ductal (ADM) y deterioro de la recuperación después de pancreatitis aguda inducida químicamente. Además, la haploinsuficiencia *Nr5a2* coopera con la pancreatitis en un modelo de ratón conducido por *KRAS* oncogénicos, incrementando el número de lesiones de PanIN (neoplasia intraepitelial pancreática) preneoplásicas e impulsando su progresión hacia PDAC. Por lo tanto, NR5A2 parece ser importante para mantener la homeostasis en el páncreas exocrino y promover la regeneración de células acinares funcionales a partir de células similares a conductos metaplásicos después de la inflamación causada por pancreatitis, y proteger el páncreas de los cambios pre-neoplásicos conducidos por *KRAS*. Aunque el mecanismo por el cual las variantes en chr1q32.1 median el riesgo de cáncer de páncreas no está claro, los estudios con ratones descritos anteriormente indican que el

mecanismo subyacente puede implicar una regulación negativa de la expresión o función del gen *NR5A2*, quizás en combinación con la inflamación en el páncreas.

**Cromosoma 2p14 / *ETAAI***. Un lugar de riesgo sugestivo se identificó por primera vez a las 2p14 en un GWAS de cáncer pancreático realizado en individuos chinos (rs2035565, OR = 1.33,  $P = 5.5 \times 10^{-9}$ ). Se identificó un SNP altamente correlacionado ( $r^2 = 0,97$  en 1000 genomas (1000G) EUR y EAS poblaciones-) en el GWAS más reciente realizado por el consorcio PanC4 (rs1486134, OR = 1.14,  $P = 3.4 \times 10^{-9}$ ). Estos dos SNP están ubicados a 20 kb de distancia, aproximadamente 5 kb en sentido ascendente y 2 kb en sentido descendente del *ETAAI* gen que codifica el antígeno 1 asociado con el tumor de Ewing (también denominado antígeno 16 asociado con el tumor de Ewing), un antígeno de superficie celular de 926 aminoácidos de función relativamente desconocida.

**Cromosoma 3q28 / *TP63***. La asociación más significativa en 3q28 se observó para rs9854771 (OR = 0,89,  $P = 2.4 \times 10^{-8}$ ), en *TP63*. Este gen codifica la proteína tumoral p63, un miembro de la familia p53 de factores de transcripción (que incluye p53, p63 y p73). Aunque las tres proteínas son altamente homólogas y comparten múltiples funciones, también tienen funciones únicas<sup>73</sup>. De manera similar a p53, p63 (y p73) pueden inducir la detención del ciclo celular y la apoptosis. El empalme alternativo de *TP63* genera las llamadas isoformas  $\Delta N$  p63, que carecen del dominio de transactivación ácido (codificado por los exones 1-3) y actúan de forma negativa dominante sobre p63, p53 y p73.

El gen *TP63* se amplifica en muchos tumores, incluidos los cánceres de pulmón de células escamosas, los cánceres de cuello y esofágicos que producen una sobreexpresión de la forma negativa dominante de la proteína. La variante más significativa en 3q28 (rs9854771) se encuentra en el cuarto intrón de las isoformas *TP63* de longitud completa, pero en el primer intrón de las isoformas  $\Delta N$  *TP63*.

**Cromosoma 5p15.33 / *CLPTMIL* / *TERT***. Ahora se han identificado tres loci de riesgo de cáncer pancreático independientes en la región de riesgo *TERT-CLPTMIL* multicáncer en chr5p15.33. Además del cáncer de páncreas, este locus se ha asociado con el riesgo de piel de células basales, vejiga, mama, leucemia linfocítica crónica, endometrio, glioma, pulmón, melanoma, ovario, próstata y cáncer de testículo, de manera intrigante, con el mismo alelo que

muestra un mayor riesgo para algunos tipos de cáncer, pero menor riesgo de otros tipos de cáncer. El *TERT* el gen codifica la codificación de la proteína y la subunidad catalítica de la telomerasa, conocida por su función esencial en el mantenimiento de los extremos de los telómeros y el aumento de la actividad de la telomerasa que se observa a menudo en los cánceres humanos. La telomerasa también exhibe funciones independientes del telómero, incluida la regulación de la expresión génica, la supervivencia celular, la transición epitelial a mesenquimatoso (EMT) y la función mitocondrial. La proteína transmembrana asociada con el labio leporino y paladar hendido (*CLPTM1L*) es un factor de supervivencia en el cáncer de pulmón donde protege a las células de la apoptosis después del tratamiento con agentes que dañan el ADN. Se sobreexpresa en un subconjunto de tumores pancreáticos y se ha demostrado que mejora el crecimiento de líneas celulares pancreáticas *In vitro* e *in vivo*, así como aumentar sus tasas de aneuploidía.

El primer locus de riesgo de cáncer de páncreas en 5p15.33 (identificado en PanScan II) se marcó con un SNP intrónico (rs401681, OR = 1.19,  $P = 3.7 \times 10^{-7}$ ) en *CLPTM1L*<sup>58</sup>. Se identificó una segunda señal independiente en PanScan III, etiquetada por un SNP sinónimo (rs2736098, OR = 0.80,  $P = 9.8 \times 10^{-14}$ ) en el segundo exón del *TERT*. Ambos SNP también se identificaron en un metanálisis basado en un subconjunto de múltiples tipos de cáncer que identificaron seis loci de riesgo independientes en el *TERT - CLPTM1L* región y bien mapeados en la señal original para el cáncer de páncreas (marcado por rs401681) para rs451360 (OR = 1.29,  $P = 2.0 \times 10^{-10}$ ) y un conjunto de SNPs altamente correlacionado. El cáncer de páncreas contribuyó al riesgo en los seis loci de riesgo *TERT - CLPTM1L*, lo que indica que los enfoques similares entre los diferentes tipos de cáncer en otros loci de riesgo de cáncer múltiple pueden resultar útiles para identificar variantes adicionales de susceptibilidad al cáncer de páncreas que pueden no alcanzar una gran importancia en el cáncer único. A falta de poder estadístico. El SNP sinónimo en *TERT*, y varias variantes correlacionadas en esta región genómica, se han asociado con la longitud de los telómeros en los glóbulos blancos y con el *TERT* actividad promotora *in vitro*. Recientemente, se identificó un tercer locus de riesgo independiente en esta región genómica a través de un análisis de gen candidato de los genes *TERT* y *TERC* en 5,550 casos de cáncer pancreático y 7,585 sujetos de control de PANDORA y PanScan. El SNP más significativo (rs2853677, OR = 0.85,  $P = 8.3 \times 10^{-8}$ ) fue el multicáncer descrito anteriormente (como Región 3).

**Cromosoma 7p14.1 / *SUGCT*** . Este locus de riesgo está marcado por rs17688601 (OR = 0.88,  $P = 1.4 \times 10^{-8}$ ), un SNP en el gen succinil-CoA: glutarato-CoA transferasa (*SUGCT*), anteriormente denominado *C7orf10* (cromosoma 7 marco de lectura abierto 10)<sup>71</sup>. Este gen codifica succinato-hidroximetilglutarato CoA-transferasa que cataliza la conversión de glutarato a glutaril-CoA dependiente de succinil-CoA.

**Cromosoma 7q32.3 / *LINC-PINT*** . La señal en 7q32.3 está marcada por un SNP intrónico (rs6971499, OR = 0.79,  $P = 3.0 \times 10^{-12}$ ) en *LINC-PINT*, un gen codificador no proteico inducido por p53 intergénico largo involucrado en el silenciamiento epigenético<sup>59, 102</sup>. Dos genes candidatos adicionales se encuentran cerca: *MKLN1* y *KLF14*. El primero codifica Muskelnin 1, un mediador intracelular de la propagación celular, y el último, *KLF14*, codifica un miembro de la familia de factores de transcripción de tipo Kruppel, que puede suprimir el crecimiento celular mediado por *KRAS*, y actúa como un regulador maestro de la expresión génica en el tejido adiposo.

**Cromosoma 8q24.21 / *LINC00824*** . Se identificó un lugar de riesgo significativo, cercano a GWAS en PanScan III en el lugar de riesgo de cáncer múltiple conocido en 8q24.21 (rs1561927, OR = 0.87,  $P = 1.3 \times 10^{-7}$ ). La señal se encuentra dentro de una transcripción de codificación no proteica, *LINC00824* de función desconocida. Los genes candidatos adicionales se encuentran a 400-800 kb centroméricos de este SNP: *MIR1205-MIR1208*, *TMEM75*, *PVT1* y *MYC*. Se sabe que el cromosoma 8q24.21 contiene múltiples loci de susceptibilidad al cáncer que abarcan más de 2Mb. Como la mayoría se encuentran lejos de este SNP, con bajos niveles de desequilibrio de enlace (LD), no es probable que representen la misma señal. Se observó un LD moderado con un SNP que es de 24 kb en la parte superior de rs1561927 y se informó que está asociado con el riesgo de cáncer de ovario (rs10088218,  $r^2 = 0.33$  en datos de 1000G EUR) indicando que puede marcar el mismo lugar de riesgo en 8q24.21.

**Cromosoma 9q34.2 / *ABO*** . El locus *ABO* fue el primer locus de riesgo de cáncer pancreático común identificado por GWAS en 2009. El alelo protector del SNP más significativo en 9q34.2 en el gen *ABO* (rs505922, OR = 1.20,  $P = 5.4 \times 10^{-8}$ ) está en desequilibrio de enlace completo (LD) con el alelo O del locus *ABO* ( $r^2 = 1$  en 1000G EUR). El *abo* el gen codifica una glicosiltransferasa (grupo de histo-sangre ABO sistema transferasa) que cataliza la

transferencia de carbohidratos específicos al antígeno H, formando así las estructuras antigénicas de los grupos sanguíneos ABO como lo describió Karl Landsteiner en 1900.

Los alelos A y B de el gen *ABO* codifica proteínas que difieren solo ligeramente en la secuencia de aminoácidos, pero catalizan la transferencia de diferentes carbohidratos (N-acetilgalactosamina o galactosa) al antígeno H. En contraste, el alelo O contiene una eliminación de una sola base que cambia el marco de lectura de *ABO* y da como resultado una proteína no funcional y una falta de antígenos A o B <sup>112</sup>. Un conjunto de pequeños estudios publicados en las décadas de 1950 y 1960 informó una asociación entre el tipo de sangre ABO y los cánceres gastrointestinales y el descubrimiento del locus de riesgo 9q32.2 / *ABO* reavivó el interés en la conexión entre los grupos sanguíneos y el cáncer de páncreas. Con los datos de PanScan GWAS, se infirieron alelos ABO individuales y se determinó su asociación con el riesgo de cáncer de páncreas, lo que demuestra que los grupos sanguíneos con A (OR = 1.38), AB (OR = 1.47) y B (OR = 1.53) inferidos tienen un mayor riesgo de Cáncer de páncreas en comparación con el grupo O. El hecho de que los alelos A1 confirieran un mayor riesgo de cáncer de páncreas (OR = 1.38), mientras que los alelos A2 no sugirieron, además, que el aumento de la actividad glicosiltransferasa del primero, ya sea hacia el antígeno H u otras proteínas, podría explicar la biología subyacente de este locus de riesgo. Desde que se publicó el informe PanScan GWAS que vincula los grupos sanguíneos ABO y el riesgo de cáncer de páncreas en 2009, numerosos estudios han investigado la asociación de grupos sanguíneos con riesgo de cáncer; los hallazgos más consistentemente significativos se han observado para el cáncer gástrico y pancreático.

**Cromosoma 12q24.31 / *HNF1A***. Se observó un lugar de riesgo sugerente cerca del gen *HNF1A* en PanScan III a un nivel que se acerca al significado de GWAS (rs1182933, OR = 1.12,  $P = 1.1 \times 10^{-6}$ ).

Se observó una variante correlacionada con un significado similar en el GWAS de PanC4 (rs7310409, OR = 1.11,  $P = 6.3 \times 10^{-7}$ ) <sup>71</sup>. Estos dos SNP están correlacionados ( $r^2 = 0,43$  en las poblaciones de 1000G EUR) y pueden representar la misma señal. *HNF1A* codifica el factor nuclear 1 del hepatocito, un factor de transcripción que se sabe que desempeña importantes funciones de desarrollo y homeostáticas en el páncreas y otros órganos gastrointestinales. Las mutaciones de la línea germinal en *HNF1A* causan diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes (MODY) tipo 3, y representan una fracción considerable de todos los casos MODY. Los

estudios de asociación de genoma han identificado variantes comunes de susceptibilidad en la vecindad del gen *HNF1A* para la T2D, el colesterol y los niveles en sangre de la proteína C reactiva.

Curiosamente, los análisis basados en la ruta de los datos de GWAS del cáncer de páncreas también han identificado posibles SNP de riesgo de cáncer de páncreas en el gen *HNF1A*. Un análisis de transcriptoma y subred identificó al *HNF1A* como el regulador aguas arriba de una subred de expresión altamente desregulada en tumores pancreáticos. La sobreexpresión de *HNF1A* en líneas celulares pancreáticas dio como resultado la detención del ciclo celular, la apoptosis y la inhibición del crecimiento concomitante con la desregulación de los genes del ciclo celular y la apoptosis, lo que indica que *HNF1A* puede funcionar como un gen supresor de tumores en el páncreas.

**Cromosoma 13q22.1** . El GWAS SNP clasificado superior (rs9543325, OR = 1.26,  $P = 3.27 \times 10^{-11}$ ), en chr13q22.1 se encuentra en una gran región no genica (600 kb), lo que sugiere que la variante funcional podría impactar la expresión génica a través de intra- o interacciones inter-cromosómicas. Esta región no genica en chr13q22.1 está flanqueada por dos genes que codifican factores de transcripción de la familia de tipo Kruppel: *KLF5* y *KLF12* . Ambos genes codifican proteínas que regulan el crecimiento y la transformación celular y se ha informado que *KLF5* está *regulado* al alza en el cáncer de páncreas. Los genes adicionales, ya sea cercanos o a una distancia mayor, podrían ser funcionalmente relevantes para el mecanismo por el cual el locus GrAS chr13q22.1 confiere riesgo de PDAC.

**Cromosoma 13q12.2 / *PDX1*** . Se identificó una segunda señal independiente en el cromosoma 13 en PanScan III, en 13q12.2 (rs9581943, OR = 1.15  $P = 2.4 \times 10^{-9}$ ) . El SNP mejor clasificado se ubica en la región promotora del gen *PDX1* (proteína homeobox1 pancreática y duodenal duodenal) y es intrónico a *PDX1-AS1* (ARN antisentido *PDX1* 1), un ARN no codificante de función desconocida. *PDX1* juega un papel crítico en el desarrollo pancreático temprano, así como en la diferenciación del páncreas exocrino, y regula la función de las células beta en el páncreas maduro. Las mutaciones en este gen se han relacionado con la agenesia del páncreas y la diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes (MODY tipo 4). Además, *PDX1* se ha implicado en la regulación dependiente de la glucosa de la transcripción del gen de la

insulina , y parece ser un buen gen candidato para este locus, aunque se requiere trabajo funcional para descubrir la base mecánica de esta señal de asociación.

**Cromosoma 16q23.1 / *BCAR1*** . Un SNP sinónimo residente en el último exón de *BCAR1* (también conocido como p130Cas) se observó en 16q23.1 (rs7190458, OR = 1,46,  $P = 1.1 \times 10^{-10}$ ). *BCAR1* funciona como una proteína adaptadora que coordina el control del ciclo celular, la organización del citoesqueleto y la migración celular. La expresión aberrante de este gen se ha relacionado con la transformación y progresión de múltiples tipos de cáncer. Dos genes de quimotripsinógeno, *CTRB1* y *CTRB2* también se encuentran cerca de este SNP (5kb y 23kb, respectivamente) y como miembros importantes de una familia de serina proteasas secretadas por el páncreas en el tracto gastrointestinal, son genes diana plausibles para las variantes de susceptibilidad en este locus<sup>144</sup> . Debido al aumento del riesgo de cáncer pancreático asociado con pancreatitis y desregulación de las enzimas digestivas, es tentador especular que el mecanismo molecular subyacente de este locus de riesgo puede involucrar a los genes de quimotripsinógeno. Sin embargo, como en todos los loci de riesgo, se requiere un mapeo fino y trabajo de laboratorio húmedo para comprender las consecuencias funcionales de tener variantes de riesgo en 16q23.1.

**Cromosoma 17q24.3 / *LINC00673*** . La señal en 17q24.3 se asigna a *LINC00673* (ARN 673 intergénico no proteico *intergénico* largo) (rs11655237, OR = 1.26,  $P = 1.42 \times 10^{-14}$ ). *LINC00675* también se denomina *HI-LNC75* , y es un ARN largo no codificante de función desconocida que se expresa en las células beta pancreáticas. Un gen candidato interesante ubicado ~ 280 kb en sentido ascendente, *SOX9*, codifica un factor de transcripción que marca células progenitoras pancreáticas multipotentes y es importante para el desarrollo del páncreas exocrino y endocrino. En el páncreas adulto, se expresa en células ductales y centroacinares donde mantiene la homeostasis y es importante para la regeneración después de la pancreatitis inducida químicamente. La expresión de Sox9 en células acinares pancreáticas de modelos de ratón induce acinar a metaplasia ductal (ADM) y es necesaria para la formación mediada por *KRAS* de lesiones preneoplásicas (PanIN).

**Cromosoma 22q12.1 / *ZNRF3*** . El SNP más significativo en 22q12.1, (rs16986825, OR = 1.18  $P = 1.2 \times 10^{-8}$ ), está ubicado en el primer intrón del gen de zinc y dedo anular 3 (*ZNRF3*), que codifica una proteína transmembrana E3 ubiquitina ligasa que regula negativamente la vía de

señalización Wnt. A cierta distancia del SNP más notable (162 kb centromérico) en este locus se encuentra *CHEK2*, un gen que codifica una quinasa de control del ciclo celular bien conocida que coopera con p53, BRCA1 y ATM en respuesta al daño del ADN y, por lo tanto, puede representar un Gen candidato digno de mayor seguimiento.

#### Loci de riesgo de cáncer pancreático común en poblaciones no europeas

Dice Amundadottir (2016) que los GWAS realizados por el Pancreatic Cohort Consortium y PanC4 en los que la mayoría de los sujetos eran de ascendencia europea, estos estudios también se realizaron en estudios de casos y controles de China y Japón. Un GWAS de dos fases con un conjunto combinado de 3,584 casos de cáncer pancreático y 4,868 sujetos de control de China (ChinaPC) identificó cinco locus de riesgo significativo GWAS en los cromosomas 5p13.1 / *DAB2*, 10q26.11 / *PRLHR*, 21q21.3 / *BACH1*, 21q22.3 / *TFF1*, y 22q13.32 / *FAM19A5*. A GWAS japonés de 991 casos de adenocarcinoma avanzada ductales pancreáticas y 5.209 sujetos de control informó tres loci que se aproximan GWAS importancia en los cromosomas 6p25.3 / *foxq1*, 7q36.2 / *DPP6*, y 12p11.21 / *BICD1*. Tanto las exploraciones de GWAS en chino como en japonés replicaron el locus chr13q22.1 descubierto inicialmente en PanScan, y anotaron el locus de riesgo en chr1q32.1 / *NR5A2*, aunque con menos importancia. El lugar de riesgo en el cromosoma chr5p15.33 / *TERT* / *CLPTMIL* (inicialmente etiquetado por rs401681 y rs31490) solo se anotó en la exploración china GWAS, y en 9q34.2 / *ABO* Solo en el escaneo japonés.

La evaluación de los loci de riesgo de cáncer pancreático de China y Japón en el consorcio de casos y controles de PANCreatic Disease ReseArch (PANDoRA) y en PanScan III no replicó ninguno de los locus de susceptibilidad al cáncer pancreático significativos de GWAS identificados en los asiáticos. Sin embargo, 2p14 / *ETAA1* (sugerente en ChinaPC) se replicó y se convirtió en GWAS significativo en el GWAS PanC4, lo que indica que los conjuntos de muestras de casos y controles adicionales pueden revelar una mayor superposición entre los hallazgos de GWAS para el cáncer de páncreas en todas las poblaciones .

#### Análisis de rutas de datos de GWAS de cáncer de páncreas

Se utilizan análisis basados en rutas para extraer datos de GWAS de PanScan I y II para identificar genes, o grupos de genes, enriquecidos con variantes cuyos efectos individuales pueden ser demasiado pequeños para ser detectados en el GWAS. Estos enfoques han destacado los genes de desarrollo pancreático, incluidos *HNFI1A*, *HNFI4G*, *HNFI1B* y *PDX1* que codifican componentes importantes de las redes transcripcionales que gobiernan el desarrollo embrionario del páncreas y mantienen la homeostasis en la glándula adulta.

Además, de acuerdo con Amundadottir (2016) las mutaciones en *HNFI1A*, *PDX1* y *HNFI1B* es responsable de la diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes (MODY tipos 3, 4 y 5). Asimismo, las variantes comunes en *HNFI1A* y *HNFI1B* se han asociado con el riesgo de diabetes tipo II. Con el número agregado de casos y controles en la tercera fase de PanScan en comparación con las dos primeras fases, la importancia de dos de estos genes / loci (*PDX1* y *HNFI1A*) mejoró notablemente, lo que indica que el análisis de la ruta de los conjuntos de datos de GWAS puede revelar genes adicionales que influyen en el riesgo de cáncer de páncreas. Además, estos resultados sugieren posibles interrelaciones funcionales entre la variación heredada en genes importantes para el desarrollo pancreático, la diabetes y el riesgo de cáncer pancreático.

#### Comprensión funcional de loci de riesgo de cáncer pancreático común

Como para la mayoría de las otras variantes de riesgo descubiertas a través de GWAS, las variantes de riesgo de cáncer pancreático comunes descubiertas hasta la fecha afirma Amundadottir (2016) no están codificadas por proteínas, sino que residen en intrones o regiones intergénicas del genoma. Se requiere mucho trabajo después de GWAS para descubrir los mecanismos biológicos que explican el riesgo en cada locus. Los primeros pasos a lo largo del camino son los esfuerzos de mapeo preciso y la caracterización genómica de cada locus para identificar los SNP de etiqueta más significativos y catalogar las secuencias transcritas y las posibles regiones reguladoras de genes funcionales. Esto se realiza a menudo junto con el análisis funcional de múltiples SNPs de etiquetas altamente correlacionados. Los esfuerzos funcionales incluyen enfoques genómicos y basados en laboratorios húmedos, como investigar los niveles de expresión génica, el empalme, la potenciación del promotor o potenciador, la metilación del ADN, la unión de la proteína al ADN, y análisis de conformación cromosómica. El objetivo de

estos estudios es correlacionar genotipos de riesgo con diferencias en fenotipos moleculares específicos para establecer el mecanismo molecular subyacente en cada locus.

Para Amundadottir (2016) está claro que el cáncer de páncreas es una enfermedad poligénica con múltiples alelos de susceptibilidad de línea germinal de alto y bajo riesgo. La búsqueda continua de variantes de línea germinal comunes y raras que influyen en el riesgo de cáncer de páncreas mantiene la promesa de aumentar nuestra comprensión de la susceptibilidad genética de esta enfermedad devastadora. Inicialmente, el mapeo de genes en familias con una alta incidencia de cáncer de páncreas se realizó mediante análisis de ligamiento y enfoques de genes candidatos, y más recientemente mediante estudios de secuenciación de genoma completo y exoma completo. Los genes identificados a través de este trabajo tienden a influir principalmente en otros tipos de cáncer (incluyendo cáncer de mama, ovario, colorrectal y melanoma) con riesgo moderadamente aumentado o altamente aumentado de cáncer de páncreas en los portadores.

La búsqueda de variantes comunes de riesgo de cáncer de páncreas en la línea germinal, lanzada por una gran cohorte y consorcios de casos y controles en 2009, para Amundadottir (2016) ha brindado valiosos conocimientos sobre la etiología del cáncer de páncreas. Seis estudios publicados de GWAS sobre cáncer de páncreas han producido 18 GWAS significativos (y múltiples indicativos) de loci de riesgo hasta la fecha en poblaciones europeas y asiáticas. Como estos loci solo representan alrededor del 15-20% de la heredabilidad total marcada por los SNP comunes, es probable que se descubran loci de riesgo pancreático adicionales en estudios futuros con conjuntos de muestras más grandes y en diferentes poblaciones de todo el mundo. Se espera que la imputación y los metaanálisis de los conjuntos de datos GWAS nuevos y existentes se agreguen a esta lista. Del mismo modo, es probable que los esfuerzos en estudios de GWAS de cáncer de páncreas fuera de los efectos principales se expandan por investigaciones de variantes de susceptibilidad para la supervivencia. La compleja arquitectura genética de cáncer de páncreas requerirá esfuerzos exoma y secuenciación del genoma completo en los casos familiares y esporádicos con el fin de alcanzar en el espacio entre alto riesgo raro y variantes comunes de bajo riesgo y es probable que los datos generados sean útiles para los esfuerzos de imputación en conjuntos de datos GWAS existentes. Como ya han demostrado los estudios de secuenciación basados en la población, el número de variantes

polimórficas poco comunes y raras en el genoma humano es muy alto y puede explicar una porción sustancial del riesgo de enfermedad en la línea germinal. Además, los enfoques de secuenciación de alto rendimiento permitirán una mejor evaluación de las variantes no capturadas en las plataformas GWAS, como los polimorfismos de inserción / eliminación (indel) y las variantes de número de copias.

Aunque se han logrado avances en nuestra comprensión del papel que desempeña la variación genética común en la etiología del cáncer de páncreas, queda una gran cantidad de trabajo por delante para descubrir un número mayor de alelos de susceptibilidad al riesgo de cáncer de páncreas poco comunes y raros. Asimismo, la identificación de variantes causales en cada locus y la elucidación del mecanismo funcional por el cual median el riesgo requerirán un gran esfuerzo. Se requiere una gran colección de muestras de tejidos y una amplia variedad de metodologías, incluidas tecnologías estadísticas, genéticas, genómicas, moleculares, de biología celular y de modelos animales. La esperanza es que este trabajo eventualmente ayude a permitir el desarrollo de herramientas de diagnóstico, pronóstico, preventivas y terapéuticas para combatir esta enfermedad altamente letal y devastadora.

### Síntesis

La revisión resume el conocimiento actual de las variantes de riesgo de cáncer de páncreas en la línea germinal con un énfasis especial en los alelos comunes de susceptibilidad identificados a través de Genome Wide Association Studies (GWAS). Lo que indica que los factores genéticos compartidos pueden desempeñar un papel en la etiología de esta enfermedad.

Se resume el conocimiento actual de las variantes de riesgo de cáncer de páncreas en la línea germinal con un énfasis especial en los alelos comunes de susceptibilidad identificados a través de Genome Wide Association Studies (GWAS). Lo que indica que los factores genéticos compartidos pueden desempeñar un papel en la etiología de esta enfermedad. Se brinda el conocimiento actual de las variantes de riesgo de cáncer de páncreas en la línea germinal con un énfasis especial en los alelos comunes de susceptibilidad identificados a través de Genome Wide Association Studies (GWAS).

### **4.1.3 Estudio 3**

**Knudsen, Gopal y Singal (2014)** indican que el carcinoma hepatocelular (CHC) representa una de las principales causas de muerte por cáncer y ha demostrado ser altamente refractario al tratamiento. El extenso análisis de la enfermedad ha demostrado que surge predominantemente en respuesta a los desafíos etiológicos de alto riesgo, especialmente el virus de la hepatitis. Sin embargo, con la evolución de la vacunación y la epidemia de obesidad, progresivamente más casos se asocian con disfunción metabólica subyacente.

Knudsen, Gopal y Singal (2014) señalan que se observan formas patológicamente diversas de CHC, y el análisis de secuencia reciente ha definido eventos comunes que se dirigen a vías de cáncer bien conocidas que incluyen  $\beta$ -catenina / Axin, TP53 y RB / CDKN2A, así como frecuentes aberraciones en la remodelación de la cromatina. Sin embargo, hay una gran cantidad de eventos genéticos de baja frecuencia que hacen que cada caso de CHC sea único. Se han implementado con éxito enfoques de perfiles de expresión génica para la evaluación pronóstica del carcinoma hepatocelular y para detectar las etapas más tempranas de la enfermedad. A pesar de una investigación más extensa, el tratamiento sistémico para el CHC es extremadamente limitado, con solo un puñado de medicamentos que proporcionan beneficios. Los ensayos clínicos en curso están intentando explotar las dependencias biológicas específicas del CHC para mejorar el pronóstico. En general, el futuro del tratamiento para el CHC dependerá de la comprensión de la interacción entre los factores etiológicos, las características moleculares de la enfermedad y la intervención terapéutica racional.

Knudsen, Gopal y Singal (2014) dicen que el carcinoma hepatocelular (CHC), es el tipo más común de cáncer de hígado primario, es la tercera causa principal de muerte relacionada con el cáncer en todo el mundo. Es la quinta causa más común de cáncer en los hombres (7,9% de todos los cánceres) y el séptimo cáncer más común en las mujeres (6,5% de todos los cánceres).

Existe una variación geográfica considerable en la incidencia de CHC, y la mayoría de los casos ocurre en países en desarrollo. Más del 75% del CHC se produce en el sudeste de Asia y en el África subsahariana, con tasas de incidencia superiores a 20 por cada 100.000 personas. Los países del sur de Europa tienen tasas de incidencia intermedias, mientras que las tasas de incidencia más bajas (<5 por 100,000 individuos) se encuentran en América del Norte, América del Sur y Europa del Norte. 2

Fundamentos genéticos de HCC

Está claro que diversos estreses etiológicos, expresan Knudsen, Gopal y Singal (2014), desempeñan un papel clave en la etiología del CHC. Sin embargo, la opinión predominante es que el daño hepático conduce a ciclos aberrantes de proliferación en el contexto de tejido hepático cirrótico inflamado que conduce a la acumulación de cambios genéticos que finalmente conducen la transformación de las células diana a CHC. Aunque se han realizado análisis convencionales dirigidos de marcadores específicos en el CHC y se han identificado vías clave de importancia para la etiología. los enfoques moleculares imparciales han brindado la oportunidad de descifrar las vías clave y los eventos genéticos en la enfermedad y su conexión con las etiologías subyacentes. En particular, la utilización de los perfiles de expresión génica y las tecnologías de secuenciación de próxima generación proporcionan un retrato de los eventos moleculares comunes que ocurren en la patogénesis de HCC.

En la actualidad, afirman Knudsen, Gopal y Singal (2013) se ha realizado la secuenciación de exones en aproximadamente 100 casos de CHC. Aunque es un esfuerzo importante de múltiples grupos, esto palidece en referencia a otras enfermedades, en donde > 1000 tumores han sido secuenciados. Sin embargo, estos estudios han proporcionado una gran cantidad de información en referencia a la arquitectura genética del CHC y las vías clave que probablemente sean relevantes para el desarrollo del CHC.

En este contexto para Knudsen, Gopal y Singal (2014), el CHC tiene un espectro de mutación relativamente único,  $G \rightarrow T$ , que está aparentemente modificado por la base etiológica de la enfermedad, y el CHC aparece en hígados cirróticos que presentan eventos mutacionales diferenciales en relación con los hígados no cirróticos. Sin embargo, con el número relativamente pequeño de muestras, es difícil discernir si diferentes tensiones etiológicas están asociadas con eventos genéticos específicos. Además, hasta la fecha, no hay cohortes significativos con aflatoxinas. Se han secuenciado tumores asociados a B1 o NASH; por lo tanto, aún se desconoce si los diferentes mecanismos asociados con el desarrollo de CHC producirán alteraciones genéticas distintas.

Como se puede esperar, la secuenciación debe identificar los oncogenes esperados y los supresores de tumores. El conductor oncogénico mutado más comúnmente definido de HCC es el gen de la  $\beta$ -catenina (CTNNB1). Este es un oncogén validado que se ha implicado previamente en la patogénesis de HCC a partir de análisis específicos de tejido humano y el uso de modelos de

ratón. 56 que implican además la importancia de esta vía, la pérdida de Axin1 y AXIN2, que son reguladores negativos de la  $\beta$ -catenina, también se observan frecuentemente en HCC. 48,49,50, 51 De manera similar, TP53 ha sido identificado como un supresor de tumores frecuentemente mutado en el CHC.

De nuevo, esto para Knudsen, Gopal y Singal (2014) es consistente con el análisis establecido de muestras de tumores humanos. Sorprendentemente, el TP53 en sí mismo es un supresor de tumores débil en modelos de ratón, y en gran medida coopera con otras tensiones para suprimir el desarrollo de CHC o reducir el potencial metastásico de los modelos de CHC. Estos hallazgos refuerzan la importancia de investigar el tejido humano para comprender realmente los fundamentos de la enfermedad humana.

Específicamente, el CHC se puede clasificar en tres o seis subtipos según el perfil de expresión génica. Estos grupos son consistentes en múltiples cohortes independientes y tienen un pronóstico general diferencial. Este trabajo fue similar al realizado en el cáncer de mama y es importante para aclarar formas intrínsecamente diferentes de CHC que tienen un pronóstico distinto. Estas firmas multigénicas se han destilado para informar la progresión de la enfermedad en etapa temprana y la invasión vascular.

Más recientemente, comentan Knudsen, Gopal y Singal (2014), el análisis extenso de muestras clínicas por perfiles de expresión génica definió una firma de 5 genes. Esta firma fue efectiva tanto en el entrenamiento como en los conjuntos de validación y superó a otras firmas que se identificaron previamente para determinar el riesgo de recurrencia y muerte después de la resección de la enfermedad. El análisis del tejido hepático no tumoral también proporciona información de pronóstico importante. Una firma de 186 genes se asocia con un mal pronóstico de la enfermedad en etapa temprana y el riesgo de progresión de la enfermedad en el hígado cirrótico.

Presumiblemente, esto se debe a que el tejido refleja el medio carcinogénico en el hígado y, por lo tanto, está asociado con el riesgo de un resultado clínico deficiente. Aunque las firmas múltiples parecen ser pronósticas en el análisis retrospectivo, no quedan marcadores predictivos establecidos que han demostrado mejorar el tratamiento del paciente. Por lo tanto, aunque hay subtipos recientemente definidos de HCC basados en perfiles de expresión génica, estos marcadores aún no han dado tratamientos dirigidos para HCC.

Para el CHC, el análisis de secuenciación ha servido para proporcionar una mejor comprensión de la genética del tumor. Sin embargo, estos datos también han demostrado que ningún tumor HCC es similar, y solo una minoría de casos tiene una mutación que provocaría de inmediato un enfoque terapéutico específico. Por lo tanto, el desafío es entender cómo se puede usar la genética para proporcionar un mapa de ruta para el tratamiento del CHC.

#### 4.1.4 Estudio 4

**Schlitter y otros (2014)** dicen que el carcinoma del conducto biliar es una enfermedad rara con un pronóstico extremadamente malo. Como la mayoría de los tumores no son resecables en el momento del diagnóstico, la detección temprana en una etapa preinvasiva es la única esperanza de curación. Dos entidades se consideran lesiones precursoras del colangiocarcinoma: neoplasia intraepitelial biliar<sup>1</sup> y neoplasmas papilares intraductales. Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar se han incluido recientemente en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud de los tumores del conducto biliar y comprenden las categorías anteriores de papiloma biliar y papilomatosis. Se considera que las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar son la contraparte biliar de las neoplasias mucinosas papilares intraductales pancreáticas.

En cuanto a neoplasia mucinoso papilar intraductal de páncreas, la existencia de cuatro subtipos diferentes (intestinal, gástrico, Pancreato-biliares y oncocítica) está bien establecida, y se han descrito diferencias pronósticas entre subtipos. Además, varios estudios realizados en ratones humanos y transgénicos revelaron una serie de cambios genéticos en vías moleculares clave durante el desarrollo de neoplasia mucinosa papilar intraductal.

En contraste con las neoplasias mucinosas papilares intraductales pancreáticas más comunes, las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar no han sido bien caracterizadas hasta el momento, ya sea desde el punto de vista clínico o molecular. La mayoría de los estudios de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar se basan en un pequeño número de pacientes asiáticos. Por lo tanto, poco se sabe sobre la relevancia pronóstica de los subtipos histológicos y las vías oncogénicas que subyacen en el desarrollo de estos tumores, especialmente de los que ocurren esporádicamente en los países occidentales.

En este estudio, Schlitter y otros (2014) analizan una gran serie de neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar de pacientes de origen europeo, centrados en los cambios genéticos moleculares en relación con la morfología, la distribución de diferentes subtipos y su relevancia pronóstica. Los datos se correlacionaron con la biología de los tumores.

### **Selección de pacientes y seguimiento**

Se incluyeron muestras de conductos biliares extrahepáticos y tumores hepáticos de pacientes tratados en diversas instituciones europeas y que cumplieran con los criterios diagnósticos de neoplasia papilar intraductal del conducto biliar (es decir, neoplasias de los conductos biliares intra o extrahepáticos con un prominente crecimiento papilar intraductal). Se excluyeron las neoplasias papilares de la ampolla, las neoplasias tubulo-papilares biliares, las neoplasias quísticas mucinosas biliares y las neoplasias intraepiteliales biliares. La cohorte del estudio constaba de 45 pacientes de seis instituciones diferentes: 13 casos provenían del Instituto de Patología y 6 casos de los archivos de consulta del Instituto, Technische Universität München, München, Alemania; 11 casos del Instituto de Patología de la Universidad de Berna, Berna, Suiza; 6 casos del Instituto de Patología, Universidad de Tübingen, Tübingen, Alemania; 4 casos de la División de Anatomía Patológica de Patología, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes, París, Francia; 3 casos del Instituto de Estudios Hepáticos del King's College Hospital, Londres, Reino Unido; y 2 casos del Instituto de Patología, Hospital Universitario de Erlangen, Erlangen, Alemania.

Comentan Schlitter y otros (2014) que uno de los casos fue publicado previamente como reporte de caso. Veintidós pacientes con colangiocarcinoma intra o extrahepático invasivo sin ningún componente papilar intraductal y, por lo tanto, posiblemente originados por lesiones de neoplasia intraepitelial biliar sirvieron para comparación. La información clínica, demográfica y macroscópica se obtuvo mediante la revisión de las historias clínicas y los informes de patología.

El diagnóstico histopatológico y la clasificación, así como la estadificación, comentan Schlitter y otros (2014), siguieron las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud. El estudio fue aprobado por el comité de ética de la Technische Universität München, München, Alemania. Los pacientes fueron seguidos después de la resección o la biopsia hasta la muerte o el último seguimiento en marzo de 2012. Pacientes con muerte perioperatoria en los primeros 30

días (tres pacientes con neoplasia papilar intraductal del conducto biliar (8%, 95% intervalo de confianza: 2–22) %) y cuatro pacientes con colangiocarcinoma (20%, intervalo de confianza del 95%: 6–44%) fueron excluidos del análisis de supervivencia.

### **Histología e inmunohistoquímica**

Todas las muestras se fijaron en formaldehído al 4%, se incluyeron en parafina, se cortaron en secciones de 3 a 5 micrómetros de espesor y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Los análisis histológicos e inmunohistoquímicos se realizaron en bloques tisulares representativos (de uno a tres bloques como máximo, un promedio de 1,2) para la neoplasia papilar intraductal de los casos del conducto biliar y en una micromatriz de tejido (dos núcleos de tejido / muestra de 2 mm) para los casos de colangiocarcinoma.

Schlitter y otros (2014), utilizaron los siguientes anticuerpos: anti-MUC1, anti-MUC6 (Novocastra, Leica Biosystems Newcastle, Newcastleupon-Tyne, Reino Unido; 1:50), anti-EGFR, anti-TP53, anti-HER2 (DakoCytomation, Glostrup, Dinamarca; 1 : 50, 1: 300 y 1: 300, respectivamente), anti-MUC2, anti-SMAD4 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, EE. UU.; 1: 100 y 1: 400, respectivamente), anti-MUC5AC (Merck Millipore , Billerica, MA, EUA; 1: 100), y anti-CDX2 (BioGenex Laboratories, San Ramon, CA, EE. UU.; 1:50). La tinción con SMAD4 se realizó manualmente; todas las demás tinciones se realizaron en un inmuno-limpiador automático con un kit de detección iVIEW DAB (Ventana Medical Systems, Roche, Mannheim, Alemania) de acuerdo con los protocolos de la compañía para procedimientos abiertos con modificaciones leves.

Todos los tumores fueron revisados por tres patólogos (AMS, IE y GK) y se clasificaron de acuerdo con los criterios establecidos para los cuatro subtipos de neoplasia mucinosa papilar intraductal pancreática.

En detalle, manifiestan Schlitter y otros (2014) el subtipo gástrico se caracterizó por papilas gruesas parecidas a dedos y lesiones quísticas revestidas por células columnares con citoplasma mucinoso, glándulas similares a pilóricos en la periferia de la lesión y expresión de MUC5AC; el subtipo intestinal se caracterizó por papilas vellosas altas, núcleos ovalados e hipercromáticos con pseudoestratificación y cantidad variable de mucina apical y expresión de

MUC2, MUC5AC y CDX2; el subtipo pancreato-biliar se caracterizó por papilas complejas de ramificación delgada, células cuboidales con núcleos hipercromáticos redondos y menos apariencia mucinosa y expresión de MUC1 y MUC5AC; y el subtipo oncocítico se caracterizó por papilas complejas de ramificación gruesa con abundante citoplasma eosinofílico y grandes núcleos redondos, así como MUC1 focal y expresión difusa de MUC5AC. En caso de diagnósticos discrepantes,

En las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar, las áreas con neoplasia intraepitelial de bajo grado (grado bajo a moderado), neoplasia intraepitelial de alto grado o carcinoma invasivo se evaluaron por separado mediante inmunohistoquímica. Los carcinomas invasores se subdividieron en tubular, coloide-mucinoso y oncocítico, [3·4](#) cuando correspondía. El tejido tumoral obtenido de la biopsia se consideró no invasivo si no estaba presente una infiltración clara del estroma.

La MUC1 membranosa y la expresión citoplásmica de MUC2, MUC5AC y MUC6 Schlitter y otros (2014) afirman que se puntuaron según el porcentaje de células positivas: negativo (<5%), focalmente positivo (5–50%) y difusamente positivo (> 50%). La expresión nuclear de CDX2, TP53 y  $\beta$ -catenina se calificó de acuerdo con el porcentaje de células positivas: negativo (<10%), focalmente positivo (10–50%) y difusamente positivo (> 50%). Para SMAD4, la ausencia de tinción nuclear y citoplásmica en > 90% de las células neoplásicas se consideró como pérdida de expresión. La tinción de los marcadores mencionados anteriormente en los tejidos de control apropiados (MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6, CDX2, TP53,  $\beta$ -catenina) y en el epitelio del conducto biliar normal y las células estromales adyacentes (SMAD4) sirvió como reacciones de control positivo.

La expresión de HER2 en membrana se evaluó utilizando, dicen Schlitter y otros (2014), las pautas HercepTest de DAKO (Dako Denmark A / S, Glostrup, Dinamarca) para la puntuación HER2 para el cáncer gástrico en muestras quirúrgicas. Todos los casos con puntajes 2+ y 3+ se evaluaron adicionalmente mediante hibridación *in situ* fluorescente, con sondas de ADN marcadas con fluorescencia específicas para el *HER2E1* locus y el cromosoma 17 centromere.

El kit de sonda de doble color SPEC HER2 / CEN17 de ZytoLight (ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Alemania) se usó de acuerdo con el protocolo del fabricante con leves

modificaciones. El número de copias del gen se investigó en regiones de puntos calientes en al menos 20 células. El estado de HER2 se expresó como la proporción de la puntuación HER2 / CEN 17: negativo ( $<1.8$ ), equívoco ( $1.8-2.2$ ) y amplificado ( $\geq 2.2$ ). La tinción con EGFR de membrana también se analizó de acuerdo con las directrices de HercepTest para la puntuación de HER2 en el carcinoma gástrico. Las puntuaciones entre 0 y 2 se clasificaron como expresión baja, una puntuación 3+ como expresión alta.

### **Análisis molecular**

Para el análisis molecular, la extracción de ADN se realizó por separado en áreas invasivas microdisecionadas manualmente, de alto grado e invasivas de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar, cuando corresponda, y en colangiocarcinomas. El procedimiento indicado por Schlitter y otros (2014), se comenta en los siguientes párrafos:

*El análisis de mutación KRAS (exón 2 y 3) y GNAS (exón 8) se realizó mediante una combinación de PCR en tiempo real con análisis de fusión de alta resolución como un método de detección sensible utilizando un LightCycler 480 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim y Penzberg, Alemania ) y la secuenciación directa de las muestras, que se identificaron como positivas o sospechosas mediante análisis de fusión de alta resolución, utilizando el cebador M13r de acuerdo con el método de Sanger para verificar y especificar el tipo de mutación.*

La pérdida de heterocigosidad del locus *p16* se analizó mediante PCR en tiempo real seguida de una cuantificación relativa avanzada con respecto a las eficiencias de la PCR, comparando la cantidad relativa del locus cromosómico *p16* (cromosoma 19q21) con el locus *PAX5* (cromosoma 9; cerca del centro).

El ADN del tejido muscular del colon normal sirvió como calibrador para una proporción equilibrada de *p16* / *PAX5* ( $p16 / PAX5 = 1$ ). Las proporciones de *p16* / *PAX5*  $<0.7$  se consideraron como pérdida de heterocigosidad del locus *p16*.

### **Análisis estadístico**

Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software IBM SPSS Statistics versión 20.0. Los datos de supervivencia se analizaron mediante el método de Kaplan-Meier que informa

las probabilidades de supervivencia estimadas a 1 y 3 años con se. Las diferencias en las curvas de supervivencia se evaluaron mediante la prueba de log-rank, y se utilizaron los modelos de riesgo proporcional de Cox para determinar las estimaciones de riesgo. ratios con intervalos de confianza del 95%. Asimismo, para las estimaciones relevantes de proporciones, se informaron intervalos de confianza exactos del 95%. Todas las pruebas estadísticas se realizaron a dos caras con un nivel de significancia de 0.05. No se consideró un ajuste formal de los valores de *P* para corregir un problema de prueba múltiple. Sin embargo, como los resultados de las pruebas de todas las comparaciones estadísticas realizadas se informaron a fondo, se realizó un ajuste informal de *P*-Se pueden realizar valores revisando los resultados. [35](#)

### **Datos clínico-patológicos.**

Expresan Schlitter y otros (2014) que la edad media (64 años) de los pacientes con neoplasia papilar intraductal del conducto biliar en el momento del diagnóstico no difirió significativamente de la de los pacientes con colangiocarcinoma (67 años). Las neoplasias papilares intraductales extrahepáticas (incluida la hiliar) del conducto biliar fueron más frecuentes (60%) que las neoplasias papilares intraductales intrauterinas (33%) y combinadas del conducto biliar (7%). En detalle, la mayoría de las lesiones extrahepáticas se identificaron en el conducto biliar intrapancreático (55%), mientras que las lesiones del conducto biliar extrapancreático y / o el conducto cístico (33%) y las lesiones hiliares (11%) fueron menos comunes. Los colangiocarcinomas mostraron una distribución similar (73% extrahepático, 27% intrahepático). Dos tercios (69%) de las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar se diagnosticaron en una etapa preinvasiva. Alrededor de un tercio se asoció con un adenocarcinoma invasivo, Principalmente de tipo tubular (93%).

La cirugía mayor se realizó en 37 de 45 pacientes (87%). En detalle, a los pacientes se les realizó pancreaticoduodenectomía (31%), hemihepatectomía (28%), resección del conducto biliar (18%), resección hepática segmentaria (15%) y trasplante de hígado (5%). No hubo información disponible sobre el tratamiento quirúrgico para un paciente.

### **Patología**

En general, comentan Schlitter y otros (2014) la mayoría de las neoplasias papilares intraductales extrahepáticas del conducto biliar se presentaron como tumores intraluminales sólidos (52%; 0,8 a 5 cm) o lesiones de la mucosa papilar (19%; 1 a 3 cm) que dilatan el conducto biliar. Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar se presentaron con mayor frecuencia como lesiones quísticas (40%; 0,5–14 cm) que como tumores intraluminales claramente visibles (27%; 2,1–6,5 cm) o intrahepáticos (20%; 4,5–8,5 cm). Se observó una abundante secreción de mucina en la luz del conducto en un solo caso (subtipo intestinal).

Histológicamente, el subtipo de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar fue posible en 43 (96%) casos. Los subtipos pancreatobiliar e intestinal fueron más comunes (36 y 29%, respectivamente), seguidos de los subtipos gástricos y oncocíticos (18 y 13%, respectivamente). Inmunohistoquímicamente, MUC1 se expresó consistentemente en el subtipo pancreato-biliar, MUC2 en el subtipo intestinal y MUC5AC en el subtipo gástrico.

Curiosamente, la expresión de CDX2 no fue una característica única del subtipo intestinal (69%), sino que también se produjo en algunos subtipos gástricos, oncocíticos y pancreato-biliares (27, 17 y 6%, respectivamente). MUC6 se expresó en todos los subtipos, con la mayor frecuencia en el subtipo pancreato-biliar (50%). Dos casos (4%) mostraron negatividad para todos los marcadores de mucina pero expresaron CDX2. Como estos casos también carecían de cualquiera de las características histológicas de uno de los cuatro subtipos, se clasificaron como neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar, que no se especifican de otro modo.

Los subtipos pancreatobiliar y oncocítico mostraron una distribución extrahepática e intrahepática (pancreatobiliar: 37% de todos los extrahepáticos, 40% de todos los intrahepáticos y ausentes en neoplasmas papilares intraductales combinados del conducto biliar; oncocítica: 11% de todos los extrahepáticos, 13% de todas las neoplasias papilares intraductales intrahepáticas y 33% combinadas del conducto biliar). El subtipo intestinal fue más común fuera del hígado (subtipo intestinal: 30% de todos los extrahepáticos, 20% de todos los neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar), mientras que el subtipo gástrico fue más frecuente dentro del hígado (gástrico subtipo: 15% de todos los extrahepáticos, 27% de todos los intrahepáticos y ausentes en los subtipos combinados).

Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar con neoplasia intraepitelial de bajo grado fueron las más comunes en el subtipo gástrico (gástrico: 25%, intestinal: 15%, pancreato-biliar: 13%, oncocítico: 0%, no especificado de otro modo: 0%). Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar con neoplasia intraepitelial de alto grado se detectaron con frecuencia en el subtipo oncocítico (oncocítico: 83%, intestinal: 62%, pancreato-biliar: 50%, gástrico: 38%, no especificado de otro modo: 50%). Un adenocarcinoma invasivo asociado se encontró con mayor frecuencia en los subtipos gástrico (38%) y pancreato-biliar (38%), en comparación con los subtipos intestinal (23%) y oncocítico (17%). Todos los carcinomas invasivos en los subtipos pancreatobiliar, gástrico y oncocítico y 2/3 del subtipo intestinal mostraron características tubulares.

### **Seguimiento y Supervivencia**

Schlitter y otros (2014) afirman que la comparación de las tasas de supervivencia global reveló un pronóstico ligeramente peor para los pacientes con colangiocarcinoma en comparación con la neoplasia papilar intraductal de los pacientes con vías biliares (cociente de riesgo: 1,40; intervalo de confianza del 95%: 0,46–4,30), una diferencia que, sin embargo, no fue estadísticamente significativa (Prueba de valor logarítmico  $P$ : 0.552).

La Comparación de subgrupos de pacientes con neoplasia papilar intraductal del conducto biliar con invasión *versus* aquellos sin invasión mostro un riesgo de muerte dos veces mayor en el primer grupo. Sin embargo, como lo refleja el amplio intervalo de confianza, la estimación del riesgo tuvo una alta incertidumbre (índice de riesgo: 2; intervalo de confianza del 95%: 0.48–8.02;  $P$  = 0.327).

Asimismo, Schlitter y otros (2014) no se pudieron detectar diferencias pronósticas estadísticamente significativas entre los diferentes subtipos histológicos (  $P$  de prueba de rango logarítmico: 0,84, datos no mostrados). Durante el seguimiento de pacientes con neoplasia papilar intraductal histológicamente no invasiva del conducto biliar, dos pacientes desarrollaron carcinoma invasivo (probablemente debido a resección incompleta o multifocalidad) y murieron de la enfermedad. En detalle, un paciente que presentó clínicamente una invasión de la vena cava había sido tratado con hemihepatectomía. Sin embargo, en el espécimen de resección, no hubo evidencia de crecimiento invasivo. Durante el seguimiento, el paciente desarrolló un carcinoma

invasivo y murió de la enfermedad (10 meses después del diagnóstico inicial). A medida que el paciente presentaba clínicamente un carcinoma invasivo avanzado, el paciente se clasificó como paciente con neoplasia intraductal papilar invasiva para el análisis de supervivencia. Un paciente falleció 22 meses después del diagnóstico inicial.

El gen *TP53* se probó con respecto a su inactivación mutacional utilizando el análisis inmunohistoquímico de la acumulación de TP53 nuclear. En las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar, la frecuencia de la expresión de TP53 nuclear aumentó progresivamente desde la neoplasia intraepitelial de bajo grado hasta el carcinoma invasivo. Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar y los colangiocarcinomas mostraron altas frecuencias comparables de expresión de TP53.

Activación de *KRAS* mutaciones se detectaron en las regiones de punto de acceso de los exones 2 y 3 en el 36% de todas las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar en comparación con 14% en colangiocarcinomas. Eran mucho más comunes en lesiones de bajo grado (57%) que en lesiones de alto grado y carcinomas invasivos asociados (26 y 8%, respectivamente). No se detectaron mutaciones *BRAF*.

El producto del gen *p16* actúa como regulador del ciclo celular y se inactiva por la pérdida de heterocigosidad del locus 9p21, la metilación del promotor o ambas. La inactivación de *p16* se detectó exclusivamente en neoplasias papilares intraductales extrahepáticas combinadas del conducto biliar y fue más frecuente en colangiocarcinomas (24% del total de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar *versus* 36% de colangiocarcinoma). En las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar, se detectaron cambios de *p16* en lesiones invasivas de bajo grado, de alto grado. Síncrono *p16* la pérdida de heterocigosidad y la hipermetilación del promotor estaban presentes en un colangiocarcinoma.

La acumulación de proteína  $\beta$ -catenina en el núcleo, lo que indica que la mutación  $\beta$ -catenina o la alteración genética de la vía Wnt /  $\beta$ -catenina, ocurrió en neoplasias papilares intraductales del conducto biliar solo en lesiones no invasivas, pero estuvo ausente en carcinomas asociados y colangiocarcinomas.

Las mutaciones de *GNAS* en las regiones de punto caliente del exón 8 fueron raras. Solo se encontró una mutación activadora en el codón 201 (p.R201H) en una sola neoplasia papilar intraductal del conducto biliar del subtipo intestinal con neoplasia intraepitelial de bajo grado.

La acumulación de proteínas SMAD4 / DPC4 en el núcleo indica un estado de tipo salvaje. La pérdida inmunohistoquímica de SMAD4, correlacionada con una mutación inactivadora, solo ocurrió en neoplasmas papilares intraductales de alto grado e invasivos del conducto biliar, mostrando aquí una frecuencia creciente. La pérdida de SMAD4 fue menos frecuente en las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar que en los colangiocarcinomas (7 *versus* 14%).

De particular interés es la ausencia de mutaciones *GNAS* de todas las neoplasmas papilares intraductales excepto una del conducto biliar (que mostró un subtipo intestinal) y la ausencia de mutaciones *KRAS* de neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar del subtipo oncocítico.

## **Discusión**

Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar son precursores raros, afirman Schlitter y otros (2014) de carcinomas invasivos intra y extrahepáticos de los conductos biliares y se consideran la contraparte biliar de las neoplasias mucinosas papilares intraductales pancreáticas. Debido al escaso número de casos y debido a la ausencia de una clasificación uniforme hasta hace poco, las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar todavía están mal caracterizadas en cuanto a su estado mutacional en relación con su desarrollo desde neoplasmas intraductales de bajo grado hasta invasivas adenocarcinomas. Tampoco se sabe si difieren biológicamente de los colangiocarcinomas o entre sí si están estratificados por subtipo.

Los datos de nuestro estudio sugieren que el perfil oncogénico de las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar sigue la progresión escalonada desde la displasia papilar intraductal de bajo grado al comienzo hasta el adenocarcinoma invasivo en su extremo. TP53, *KRAS* y *p16* (en orden decreciente de frecuencia) fueron los genes / proteínas más comúnmente afectados en las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar con neoplasia intraepitelial de bajo grado e inactivación de *p16* se encontró de forma interesante solo

en neoplasmas papilares intraductales extrahepáticos o combinados del conducto biliar, pero no en casos exclusivamente intrahepáticos.

Los cambios mutacionales de estas moléculas parecen ser, por lo tanto, alteraciones tempranas, ya que probablemente se encuentran entre los eventos que inician las proliferaciones epiteliales intraductales. El desarrollo posterior de las proliferaciones intraductales a neoplasia intraepitelial de alto grado y finalmente a carcinoma invasivo se caracterizó por una expresión creciente de TP53 nuclear y por la pérdida de SMAD4. Los otros genes se mantuvieron sin cambios en su estado mutacional (*p16*) o incluso mostraron una frecuencia disminuida de mutaciones, como en el caso de *KRAS*. Este hallazgo fue inesperado y es difícil de interpretar, ya que en la neoplasia mucinosa papilar intraductal pancreática la frecuencia de mutaciones *KRAS* aumenta paralelamente con el grado de malignidad. Una posible explicación puede ser un número insuficiente de células tumorales microdisccionadas. Otra razón podría ser que la progresión a carcinoma invasivo se basa en el desarrollo de un nuevo clon de células tumorales distinto del de las células no invasivas e independiente de la activación de *KRAS*.

La noción de que *KRAS* y TP53 son importantes de acuerdo a Schlitter y otros (2014), al menos al comienzo de la patogénia molecular de la neoplasia papilar intraductal del conducto biliar, está respaldada por un modelo de ratón diseñado genéticamente basado en la activación de *KRAS* y la eliminación de *TP53* (Alb-Cre; *Kras*<sup>G12D</sup>; *p53*<sup>L / L</sup> y Alb-Cre; *Kras*<sup>G12D</sup>; *p53*<sup>L / +</sup>). Los animales con estos cambios genéticos desarrollan colangiocarcinoma intrahepático invasivo a partir de diferentes lesiones precursoras, incluida la neoplasia papilar intraductal del conducto biliar, como tumores con epitelio intestinal y pancreato-biliar.

Entre los genes cuyos cambios parecen ser menos importantes para el desarrollo de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar debido a su poca frecuencia se encuentran *GNAS*, un gen que se encontró que estaba vinculado a la patogénia molecular de la neoplasia mucinosa papilar intraductal pancreática,  $\beta$ -catenina, *HER2* y *EGFR*. Activando mutaciones de *GNAS*, que codifica una subunidad alfa de la proteína G, se descubrió recientemente en un alto número de neoplasias mucinosas papilares intraductales pancreáticas, pocos adenocarcinomas invasivos asociados con neoplasias mucinosas papilares intraductales y neoplasias intraepiteliales pancreáticas de neoplasias papilares intraductales de neoplasias papilares intraductales.

En el estudio, la secuenciación del exón 8 reveló una mutación activadora común de *GNAS* (p.R201H) en una neoplasia intraductal papilar del conducto biliar del subtipo intestinal y con neoplasia intraepitelial de bajo grado, mientras que *GNAS*. Se detectaron mutaciones en las otras neoplasias papilares intraductales del conducto biliar y en los colangiocarcinomas.

Esta baja frecuencia está de acuerdo con los datos de un estudio reciente, que incluyó 23 neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar y encontró solo un caso mutado por *GNAS*. Curiosamente, el *GNAS*-mutado neoplasias papilares intraductales del conducto biliar en el último estudio (1/23, 4%) y nuestro caso, así como la mayor parte de la *GNAS*-mutated neoplasmas mucinosos papilares intraductales de páncreas eran todos del subtipo intestinal, que puede sugerir un posible vínculo a nivel molecular con el adenoma vellosos colorrectal, donde *GNAS* es comúnmente mutado (83%).

La  $\beta$ -catenina, un objetivo corriente abajo de la vía de señalización de Wnt que promueve el crecimiento, se relacionó recientemente con la progresión de la neoplasia papilar intraductal biliar del conducto biliar asociada con la hepatolitiasis.

En el estudio nuclear  $\beta$  Schlitter y otros (2014) encontraron catenina acumulación sólo en cuatro neoplasias papilares intraductales del conducto biliar en las lesiones no invasivos. Del mismo modo, raros fueron neoplasmas papilares intraductales del conducto biliar con *HER2* amplificado (3+) o sobreexpresado EGFR. La aparición de ambos receptores parece ser un evento tardío en la progresión de las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar. Dado que ambos receptores de crecimiento son dianas farmacológicas que se han inhibido con éxito en diferentes adenocarcinomas gastrointestinales, también son de interés potencial para el tratamiento de neoplasias papilares intraductales avanzadas del conducto biliar en el contexto de los enfoques de medicina personalizada.

En conjunto, los datos sugieren que el desarrollo de neoplasias papilares intraductales del conducto biliar sigue una secuencia de adenoma-carcinoma, iniciada por la activación de *KRAS* y una pérdida de la función de los genes supresores de tumores *TP53* y *p16*.

La pérdida de SMAD4 se produce en las fases tardías de la progresión del tumor y puede actuar como un conductor para el carcinoma invasivo. Las alteraciones de *HER2*, EGFR,  $\beta$ -

catenina y *GNAS* parecen ser menos relevantes en la carcinogénesis de las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar. Alteraciones de los genes y proteínas clave en la neoplasia papilar intraductal del desarrollo del conducto biliar, a saber, *KRAS*, *TP53*, *p16* y *SMAD4*, también se observaron comúnmente en los colangiocarcinomas. Las tasas de mutación reportadas muestran un alto rango entre colangiocarcinoma intrahepático y extrahepático y entre diferentes estudios.

Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar y el colangiocarcinoma comparten, por lo tanto, similitudes en la carcinogénesis molecular respectiva, pero también muestran diferencias, como por ejemplo con respecto al papel de la inactivación de *TP53*, que representa un evento temprano en neoplasias papilares intraductales de la bilis Conducto y un evento tardío en el desarrollo del colangiocarcinoma. Una evaluación adicional de las diferencias moleculares entre los colangiocarcinomas que se originan a partir de la neoplasia intraepitelial biliar y la neoplasia papilar intraductal del conducto biliar podría ayudar a comprender la morfología y la historia natural de estos dos precursores del carcinoma del conducto biliar.

### Síntesis

Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar todavía están mal caracterizadas con respecto a (1) sus alteraciones moleculares durante el desarrollo de carcinomas invasivos, (2) su estratificación de subtipo y (3) su comportamiento biológico. Realizamos un estudio multicéntrico que analizó estos problemas en una gran cohorte europea. Las neoplasias papilares intraductales del conducto biliar de 45 pacientes se clasificaron y titularon utilizando marcadores de mucina y *CDX2*. Además, los tumores se analizaron para detectar vías oncogénicas comunes y los hallazgos se correlacionaron con el subtipo y el grado. Los datos se compararon con los de 22 colangiocarcinomas extrahepáticos e intrahepáticos. Las neoplasias papilares intraductales mostraron un desarrollo de neoplasia intraepitelial preinvasiva de bajo a alto grado a carcinoma invasivo.

El análisis molecular e inmunohistoquímico reveló *KRAS* mutado, la sobreexpresión de *TP53* y la pérdida de *p16* en neoplasias intraepiteliales de bajo grado, mientras que la pérdida de *SMAD4* se encontró en las fases tardías del desarrollo del tumor. Las alteraciones de *HER2*, *EGFR*,  $\beta$ -catenina y *GNAS* fueron eventos raros. Entre los subtipos, los más comunes fueron

pancreatobiliar (36%) e intestinal (29%), seguidos de los subtipos gástrico (18%) y oncocítico (13%). Los pacientes con neoplasia papilar intraductal del conducto biliar mostraron una supervivencia global ligeramente mejor que los pacientes con colangiocarcinoma (cociente de riesgo (colangiocarcinoma versus neoplasia papilar intraductal del conducto biliar): 1.40; 95% intervalo de confianza: 0.46-4.30;  $P = 0.552$ ). El desarrollo de neoplasias papilares intraductales biliares del conducto biliar sigue una secuencia de adenoma-carcinoma que se correlaciona con la activación gradual de las vías oncogénicas comunes. Se necesitan más ensayos de gran tamaño para investigar y verificar el hallazgo de un mejor pronóstico de las neoplasias papilares intraductales en comparación con el colangiocarcinoma convencional.

#### **4.1.5 Estudio 5**

**Stotz y otros (2013)** indican que el aumento de la proporción de neutrófilos y linfocitos es un factor de mal pronóstico en pacientes con cáncer pancreático operable e inoperable primario. En comparación con otras entidades tumorales, la incidencia de cáncer de páncreas (CP) es baja y no ha cambiado mucho durante las últimas dos décadas. aunque en la mayoría de las enfermedades malignas se puede alcanzar un progreso continuo en la terapia específica del tumor o el resultado, el manejo de la CP aún no es satisfactorio, ya que hasta ahora no se ha logrado ningún avance en la terapia con CP.

Por tanto, dicen Stotz y otros (2013) que desafortunadamente, la mortalidad por CP es casi del 100% después de un seguimiento de 5 años. La alta mortalidad está relacionada con la progresión del tumor local y las complicaciones de las metástasis a distancia. Potencial limitado de la resección curativa como única medida de curado es el resultado de síntomas no específicos hasta una enfermedad asintomática durante mucho tiempo, ya pesar de los tremendos avances, la tecnología de imágenes aún insatisfactoria.

En el momento del diagnóstico, la mayoría de los pacientes dependen de la quimioterapia paliativa, cuya eficacia es insatisfactoria. En consecuencia, se debe realizar una investigación intensa en relación con la falta de regímenes específicos de tumores disponibles y una detección de tumores temprana insuficiente. Actualmente, la predicción de la progresión o recurrencia del tumor se limita al uso de factores histopatológicos y clínicos, como el

tamaño del tumor, el grado histológico, el subtipo histológico o la edad en el momento del diagnóstico.

La identificación de nuevos factores pronósticos podría permitir una mejor estratificación del riesgo para las modalidades de tratamiento adyuvante después de la cirugía o un tratamiento más agresivo en pacientes con enfermedad metastásica primaria. La validación externa de las herramientas de evaluación de riesgo pronóstico en cohortes independientes de pacientes es primordial antes de la generalización de la aplicabilidad de un marcador o modelo pronóstico.

Comentan Stotz y otros (2013) que los cambios en la respuesta inflamatoria sistémica a la manifestación de células tumorales o la inflamación sistémica pueden medirse fácilmente mediante parámetros basados en la sangre, como la tasa de sedimentación de eritrocitos, la proteína C reactiva (CRP) o diferentes niveles de glóbulos blancos, por ejemplo, un mejor resultado para una alta densidad de linfocitos en el estroma tumoral que en uno inferior. Es importante destacar que, especialmente, se ha asumido que la proporción de neutrófilos y linfocitos (NLR) es un marcador confiable y fácilmente disponible para predecir la supervivencia de los pacientes en diferentes tipos de cáncer.

En los últimos años de acuerdo con Stotz y otros (2013), estos hallazgos han sido probados en varias entidades tumorales con respecto a su papel en la predicción de la progresión y el pronóstico del cáncer. En CP, existen datos controvertidos con respecto a la NLR y el resultado del tumor, pero la mayoría de estos estudios incluyeron números bastante pequeños de casos investigados ( $n < 100$ ) y difieren en términos de criterios de inclusión y puntos finales clínicos.

Por lo tanto, el objetivo del estudio de Stotz y otros (2013) fue validar externamente el valor de la NLR como parámetro pronóstico en una gran cohorte de 371 pacientes con CP. Para este propósito, probó la relevancia pronóstica de la NLR con respecto a la supervivencia específica para el cáncer (CSS), estratificada para los pacientes (A) que se sometieron a resección quirúrgica (grupo 1) y (B) pacientes que no estaban operativos al momento del diagnóstico (Grupo 2).

Este análisis retrospectivo incluyó datos de 371 pacientes consecutivos con adenocarcinoma pancreático confirmado histológicamente, que fueron tratados en la División de Oncología Clínica, Universidad Médica de Graz entre 2004 y 2010. Todos los datos clínico-patológicos se obtuvieron de los registros médicos de la División de Oncología Clínica y registros patológicos del Instituto de Patología de la misma institución.

Como el sistema de clasificación TNM para CP cambió durante el período de estudio, Stotz y otros (2013) expresan que las etapas del tumor se ajustaron uniformemente de acuerdo con la 7ª edición de este sistema. Otros parámetros clínico-patológicos documentados incluyeron el tipo de terapia (es decir, intervención quirúrgica o estado de enfermedad inoperable primaria), administración y modo (adyuvante o paliativo) de la quimioterapia con gemcitabina, sexo y edad. Los datos de laboratorio, incluidos los niveles de neutrófilos, linfocitos, plaquetas, niveles de albúmina, PCR, niveles de marcadores tumorales CA19-9 y CEA y bilirrubina se obtuvieron mediante exploración preoperatoria 1 semana – 1 día antes de la intervención quirúrgica o el diagnóstico histológicamente comprobado. Sobre la base de estudios anteriores, se seleccionó una NLR de  $> 5$  como valor de corte para la validación. Además, se evaluó el valor pronóstico de la proporción de plaquetas-linfocitos (PLR) y la puntuación pronóstica de Glasgow modificada (mGPS), como se describió anteriormente.

El PLR se clasificó en dos grupos según un valor de corte de  $> 150$ ). El mGPS combina concentraciones de CRP y albúmina. Se asignó una puntuación de 2 a los pacientes que tenían niveles elevados de PCR ( $> 10 \text{ mg dl}^{-1}$ ) y niveles de albúmina ( $< 3,5 \text{ g / dl}^{-1}$ ). Se asignó una puntuación a los pacientes con solo PCR elevada ( $> 10 \text{ mg dl}^{-1}$ ) de 1 y a los pacientes con ninguna de estas anomalías se les asignó una puntuación de 0.

La vigilancia postoperatoria de los pacientes, explican Stotz y otros (2013) incluyó exámenes clínicos y de laboratorio de rutina y métodos de imagen. Las evaluaciones de seguimiento se realizaron cada 3 meses dentro de los primeros 3 años, 6 meses durante 5 años y, posteriormente, anualmente para los estadios de tumores resecados curativos. Para los pacientes fallecidos, las fechas de muerte se obtuvieron del registro central de la Oficina de Estadísticas de Austria. La supervivencia específica para el cáncer se definió como el tiempo (en meses) desde la fecha de la cirugía o la fecha del diagnóstico histológicamente

comprobado de la muerte relacionada con el cáncer. El estudio fue aprobado por el comité de ética local de la Universidad Médica de Graz (No. 23-279 ex 10/11).

### **Análisis estadístico**

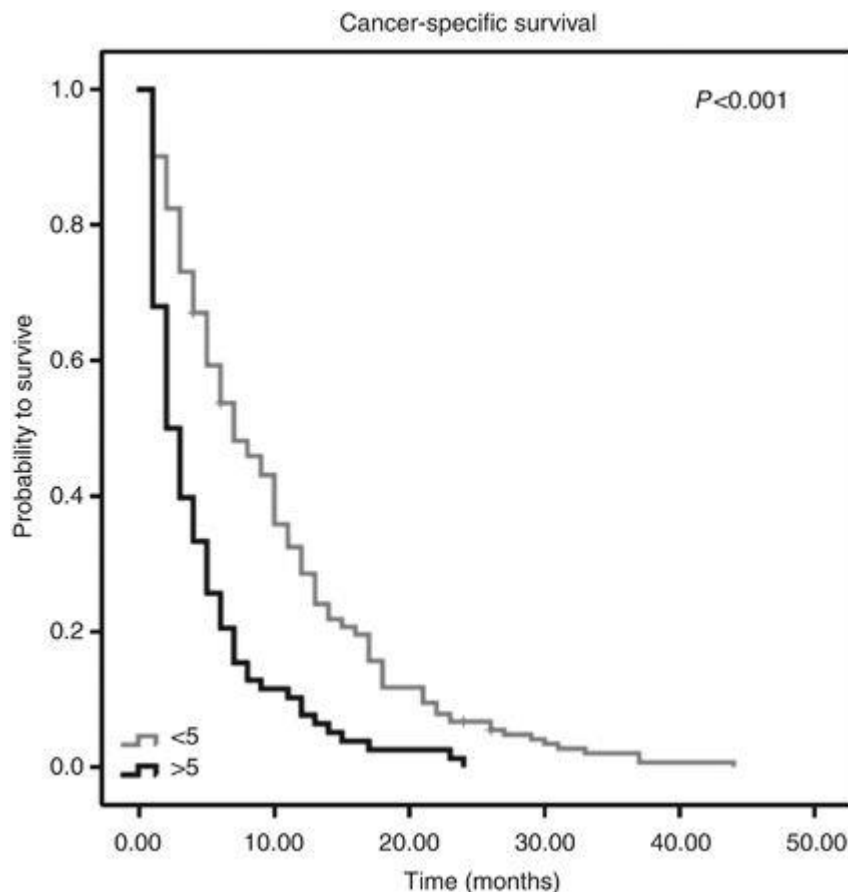
Para la validación externa del valor pronóstico de los parámetros inflamatorios, tan Stotz y otros (2013) decidieron utilizar una subdivisión pronóstica para cada parámetro o puntaje pronóstico descrito que sea consistente con la literatura publicada anteriormente. La relación entre la NLR y otros parámetros clínico-patológicos se estudió mediante pruebas no paramétricas. Los puntos finales clínicos de los pacientes se calcularon utilizando el método de Kaplan-Meier y se compararon mediante la prueba de log-rank. El género, la edad y todas las variables con valor pronóstico significativo en el análisis univariado se seleccionaron para una evaluación adicional en el modelo multivariado final de riesgo proporcional de Cox. Se realizó un análisis de la proporción de Cox multivariable hacia atrás para determinar la influencia de diferentes parámetros clínico-patológicos en la CSS. Los índices de riesgo (HR) estimados a partir del análisis de Cox se informaron como riesgos relativos con los correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95%. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico para ciencias sociales versión 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Una de dos caras  $P < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

De los 371 pacientes con CP consecutivos, expresan Stotz y otros (2013), 261 (70,4%) pacientes fueron diagnosticados sin una posibilidad de intervención quirúrgica curativa debido al estado avanzado de la enfermedad (grupo 1). Los otros 110 pacientes (29,6%) se sometieron a una resección del páncreas con tumor (grupo 2). El tiempo medio de supervivencia de los pacientes de toda la cohorte fue de 7 meses (rango intercuartil: 3–17 meses). En general, encontramos un recuento medio de neutrófilos de  $5432 \pm 2846$ , un recuento medio de linfocitos de  $1421 \pm 606$  y un NLR medio de  $4,75 \pm 5,67$ . Aplicando los criterios mencionados anteriormente, seleccionamos un valor de corte de  $> 5$  para la validación externa de la relevancia pronóstica de la NLR. Con respecto al grupo 1 (261 pacientes inoperables primarios), la supervivencia media fue de 5 (rango intercuartil: 2–12) meses y 257 (98,5%) pacientes murieron en su visita de seguimiento más reciente.

De los 261 pacientes inoperables, 221 (84,7%) tenían CP metastásico y 40 (15,3%) tenían CP inoperable avanzado localmente. De los 261 pacientes inoperables, 179 (68.6%) recibieron un tratamiento quimioterapéutico paliativo con monoterapia con gemcitabina. Una NLR  $\geq 5$  se correlacionó estadísticamente de forma significativa con la no administración de quimioterapia, enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico, mGPS alto, PLR alta y niveles más altos de CA19-9 ( $P < 0.05$ ), pero no con la edad, los niveles de CEA o el sexo.

Para investigar si una NLR alta se asocia con el resultado clínico de los pacientes del grupo 1 (es decir, CP inoperable primario), Stotz y otros (2013) hicieron un análisis univariable y multivariable. La curva de Kaplan-Meier para CSS y revela que una NLR alta es un factor consistente para un pronóstico desfavorable en pacientes con CP inoperables ( $P < 0.001$ , prueba de log-rank).

## **Figura 1**



Curva de Kaplan-Meier estratificada por NLR con respecto a la supervivencia específica del cáncer para pacientes con adenocarcinoma pancreático inoperable primario ( $n = 261$ )

Fuente: Stotz y otros (2013)

El análisis univariado identificó CP metastásica (metastásica *versus* localmente avanzada,  $P < 0,001$ ), ningún tratamiento quimioterapéutico (sin tratamiento *versus* quimioterapia paliativa,  $P < 0,001$ ), aumento de la NLR ( $vs5$  *vs*  $<5$ ,  $P < 0,001$ ) y mGPS alto ( $1+2$  *vs*  $0$ ,  $P = 0.029$ ) como pronosticadores de resultados deficientes para la CSS de los pacientes, mientras que el sexo, la edad y la PLR no se asociaron estadísticamente con la CSS.

Para determinar la importancia pronóstica independiente de la NLR para CSS, se calculó un modelo multivariado de riesgo proporcional de Cox que incluye género, edad y todas las variables asociadas significativamente con la supervivencia en un análisis

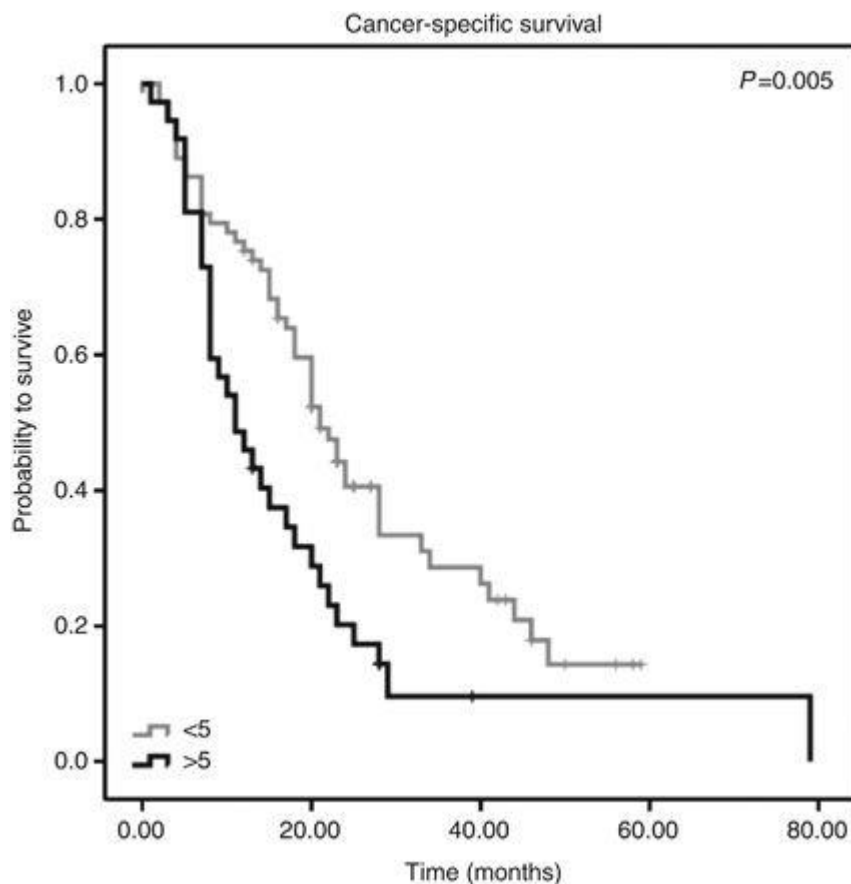
univariable. En el análisis multivariado, identificamos la enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico, la administración de quimioterapia paliativa y un aumento de la NLR (todos los valores de  $p < 0,05$ ) como factores pronósticos independientes para la CSS.

Con respecto al grupo 2 manifiestan Stotz y otros (2013) (110 pacientes con CP que se sometieron a una resección quirúrgica con intención curativa), la supervivencia media fue de 18 (rango intercuartil: 8–25) meses y 84 (76,4%) pacientes murieron en su última visita de seguimiento. De los 110 pacientes, 16 (14,5%) tenían tumores localmente confinados (estadio I-IIa), 85 (77,3%) tenían afectación ganglionar (estadio IIb) y 9 (8,2%) tenían enfermedad localmente avanzada (estadio III). Ochenta y nueve (80,9%) tuvieron una resección R0 con márgenes quirúrgicos libres y 88 pacientes (80%) recibieron un tratamiento con gemcitabina. Treinta y siete (33,6%) pacientes tuvieron un aumento de NLR ( $\geq 5$  como se definió anteriormente como valor de corte).

El aumento de la NLR se asoció significativamente con un alto mGPS y un alto PLR, pero no se correlacionó estadísticamente con la edad, el estadio tumoral, el margen de resección, la administración de quimioterapia, el género o los niveles preoperatorios de bilirrubina, CA19-9 o CEA (datos no mostrados).

El análisis univariado identificó el estado avanzado de la enfermedad (estadio IIb / III *versus* estadio I – IIa,  $P < 0,001$ ), margen quirúrgico libre (resección R0 *vs* resección R1,  $P = 0,019$ ) y aumento de NLR ( $\geq 5$  *vs*  $< 5$ ,  $P < 0,006$ ) como pronosticadores de resultados deficientes para la CSS de los pacientes, mientras que el sexo, la edad, la mGPS, la PLR y la administración de quimioterapia (todos los valores de  $p < 0,05$ ) no se asociaron estadísticamente con la CSS. La curva de Kaplan-Meier para la CSS revela que una NLR alta es un factor para el mal pronóstico en pacientes con CP que se sometieron a una resección tumoral ( $P = 0,005$ , prueba de log-rank).

Figura 2



Curva de Kaplan-Meier estratificada por NLR con respecto a la supervivencia específica del cáncer en pacientes con adenocarcinoma de páncreas reseccionado primario ( $n = 110$ ).

Fuente: Stotz y otros. (2013)

Para determinar la importancia pronóstica independiente de la NLR para CSS, se calculó un modelo multivariado de riesgo proporcional de Cox que incluye el género, la edad y todas las variables asociadas significativamente con la supervivencia en un análisis univariado. En el análisis multivariado, identificamos el estado avanzado de la enfermedad y un aumento de la NLR como factores pronósticos independientes para la CSS.

Discusión

Debido a casi ningún progreso importante, a pesar de las tremendas actividades de investigación, en la terapia específica para tumores en CP en los últimos años, los diagnósticos insuficientes de diagnóstico temprano y los tratamientos no efectivos siguen siendo un gran desafío. Hasta ahora, comentan Stotz y otros (2013) el estadio inicial del tumor y la posibilidad de resección curativa han inclinado la balanza para una nueva decisión de terapia oncológica. Sin embargo, la mayoría de los pacientes dependen de la quimioterapia paliativa debido a la falla de la resección quirúrgica en el momento del diagnóstico.

Con el fin de obtener más información de pronóstico que el examen de tejido patológico o las variables clínico-patológicas tradicionales en CP, realizamos este estudio de validación externa en dos grupos de pacientes diferentes y confirmamos que un NLR mayor es un factor de pronóstico independiente para CP operativa primaria y para pacientes ya avanzados.

El conocimiento sobre la influencia bilateral del cáncer y la inflamación se había descubierto hace más de un siglo. Sin embargo, el interés en este tema ha reavivado en los últimos años, cuando varios estudios, podrían dar más información sobre la relación tumor-inflamación. Más allá de los mecanismos e interacciones fisiopatológicos del estroma tumoral inflamatorio y las células cancerosas, las moléculas inflamatorias circulantes y las células atraen cada vez más atención como biomarcadores pronósticos.

Especialmente, se exploró intensamente la NLR y su papel como un marcador pronóstico en varias entidades tumorales diferentes, donde se pudo obtener una correlación entre la NLR alta y un resultado clínico deficiente. Los parámetros basados en sangre fácilmente disponibles para calcular el NLR, sin mayores esfuerzos laboriosos, podrían hacer de este valor un buen parámetro para una evaluación de riesgo más individualizada en CP. En CP, hasta ahora solo hay pruebas pequeñas y controvertidas de la función de la NLR como marcador pronóstico debido al hecho de que la pequeña cuenta de los estudios y el número limitado de pacientes deben aclararse con mayor precisión.

Por ejemplo, dicen Stotz y otros (2013) citan a varios autores. Clark et al (2007) evaluaron 44 pacientes con CP con resección primaria y no encontraron relevancia pronóstica para el aumento de la NLR. Sanjay et al (2012) informaron otro estudio negativo que incluyó

51 pacientes con CP con resección primaria . En contraste con estos hallazgos negativos y en línea con nuestros datos, Wang et al (2012) encontraron un peor pronóstico en 177 pacientes con CP consecutivos (independientemente de su estrategia terapéutica) en caso de NLR elevada. Garcea et al (2011) también podrían probar la NLR, en 74 pacientes con CP, como un parámetro pronóstico significativo con respecto a la supervivencia libre de enfermedad. Curiosamente, los resultados del estudio de Wang et al (2012) corroborar con nuestros hallazgos con respecto a la falta de información pronóstica significativa del mGPS y el PLR en pacientes con CP.

Para Stotz y otros (2013), en contraste con nuestros datos y el estudio de Wang et al (2012) , Jamieson et al (2011) informaron en 135 pacientes tratados quirúrgicamente que la mGPS, pero no la NLR o la PLR, eran factores pronósticos independientes. Pine et al (2009). También encontraron una relación de niveles elevados de PCR y mala supervivencia en 141 pacientes con CP inoperables. Algunas de las razones de estos resultados contrastantes podrían ser el pequeño número de casos investigados informados en muchos estudios previos, diferentes valores de corte utilizados para la PCR, diferentes criterios de inclusión y exclusión y diferentes esquemas de tratamiento

Sin embargo, todas las investigaciones declaradas tuvieron que lidiar con cuentas de pacientes más pequeñas, y Stotz y otros (2013) creen que hasta donde saben, el estudio nuestro estudio representa el más completo hasta ahora, validando un valor de corte propuesto previamente y la importancia pronóstica independiente de la NLR. Sobre la base de nuestros datos, creemos que determinar el NLR en el momento del diagnóstico de la CP puede ser útil como criterio de estratificación en ensayos clínicos, como la supervivencia de los pacientes que reciben programas de tratamiento médico puede verse influenciada masivamente por parámetros de pronóstico (desconocidos).

Por lo tanto, la estratificación desequilibrada de los pacientes según factores de pronóstico aún no reconocidos, como la NLR, dicen Stotz y otros (2013) que su estudio y el estudio de Wang et al (2012), contrastatan con el Jamieson et al (2011) que informaron en 135 pacientes tratados quirúrgicamente que la mGPS, pero no la NLR o la PLR, eran factores pronósticos independientes. Mencionan que Pine et al (2009) también encontraron una

relación de niveles elevados de PCR y mala supervivencia en 141 pacientes con CP inoperables.

Algunas de las razones de estos resultados contrastantes podrían ser el pequeño número de casos investigados informados en muchos estudios previos, diferentes valores de corte utilizados para la PCR, diferentes criterios de inclusión y exclusión y diferentes esquemas de tratamiento podría afectar el resultado de los ensayos clínicos e influir en la aprobación / rechazo consecutivos de nuevos fármacos anticancerosos probados. Además de la posibilidad de un criterio de estratificación de riesgo en ensayos clínicos, el tratamiento previo de la NLR también podría ser útil para la evaluación de riesgo del paciente individual y el asesoramiento del paciente. Hasta ahora, no hay una explicación biológica clara para todos estos hallazgos; sin embargo, se han hecho algunas postulaciones con respecto a estos hechos.

Además, una gran cantidad de neutrófilos, que se había informado que influyen en la actividad citolítica de los linfocitos o células asesinas naturales hace más de 20 años, podrían influir en el crecimiento del tumor de manera negativa.

Las actividades de investigación recientes identificaron neutrófilos, respectivamente, subpoblaciones de neutrófilos que suprimieron la proliferación de células T por la integrina Mac-1 y el peróxido de hidrógeno. Como una NLR alta va junto con una cantidad mayor de neutrófilos o un número menor de linfocitos, lógicamente una NLR más alta puede resultar en una linfopenia relativa. Se sabe que los linfocitos tienen un papel crucial en la defensa del tumor al inducir la muerte celular citotóxica e inhibir la proliferación y migración de las células tumorales.

Por lo tanto, un número reducido de linfocitos conduce a una reacción inmunitaria más débil contra las células tumorales. Además, la importancia inmunológica de las células neutrófilas y linfáticas en otras enfermedades, como las de tipo cardiocvascular, endocrinológico o infeccioso. No obstante para Stotz y otros (2013), a este respecto, no debe olvidarse que, si bien la NLR es fácil de medir, la cantidad de neutrófilos y linfocitos depende en gran medida de una serie de factores internos y externos, desde infecciones activas, enfermedades inflamatorias crónicas hasta hábitos relacionados con el estilo de vida.

Al igual que con todos los estudios retrospectivos, las limitaciones del estudio son inherentes a su diseño, incluida la recopilación de datos retrospectivos. No obstante, se puede demostrar que una NLR elevada es un marcador de mal pronóstico para los pacientes con CP primaria operable y metastásica. Uno de los puntos fuertes de nuestro estudio es el tamaño relativamente grande de la muestra en comparación con otros estudios que cubren este tema. Sin embargo, contar la relación NLR da una pista de pronóstico independiente y puede ser un apoyo para las decisiones de terapia oncológica. Se justifica aclarar el nivel de corte óptimo de la NLR y realizar investigaciones adicionales sobre su fortaleza y debilidades.

### Síntesis

#### **Fondo:**

La proporción de neutrófilos y linfocitos (NLR) se ha propuesto como un indicador de la respuesta inflamatoria sistémica. Los hallazgos previos de estudios a pequeña escala revelaron resultados contradictorios sobre su importancia pronóstica independiente con respecto a diferentes puntos finales clínicos en pacientes con cáncer de páncreas (CP). Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue la validación externa de la importancia pronóstica de la NLR en una gran cohorte de pacientes con CP.

#### **Métodos:**

Los datos de 371 pacientes con CP consecutivos, tratados entre 2004 y 2010 en un solo centro, fueron evaluados retrospectivamente. La cohorte completa se estratificó en dos grupos según la modalidad de tratamiento. El grupo 1 comprendió 261 pacientes con CP inoperable en el momento del diagnóstico y el grupo 2 comprendió 110 pacientes con CP resecada quirúrgicamente. La supervivencia específica del cáncer (CSS) se evaluó mediante el método de Kaplan-Meier. Para evaluar la importancia pronóstica independiente de la NLR, se aplicaron la puntuación pronóstica de Glasgow modificada (mGPS) y los modelos de regresión de Cox univariados y multivariados de la proporción plaqueta-linfocitos.

#### **Resultados:**

El análisis multivariado identificó un aumento de la NLR como factor pronóstico independiente para pacientes con CP inoperables (cociente de riesgo (HR) = 2.53, intervalo de confianza (IC) = 1.64–3.91,  $P < 0.001$ ) y pacientes con CP resecados quirúrgicamente (HR = 1.61, IC = 1.02–2.53,  $P = 0.039$ ). En pacientes con CP inoperables, el mGPS se asoció con una CSS pobre solo en el análisis univariado (HR = 1.44, IC = 1.04–1.98).

### **Conclusión:**

La predicción de riesgo para los puntos finales relacionados con el cáncer mediante la NLR agrega información de pronóstico independiente a otros factores pronósticos bien establecidos en pacientes con CP, independientemente de la modalidad terapéutica en proceso. Por lo tanto, la NLR debe considerarse para una futura evaluación de riesgo individual en pacientes con CP.

### **4.1.6 Estudio 6**

**Comentan Wan y otros (2013)** que en el sistema biliar hay una clase de tumor que se caracteriza por un crecimiento papilar intraductal predominante, que puede ocurrir en cualquier lugar a lo largo del árbol biliar. Los crecimientos suelen ser multifocales, con o sin secreción de mucina macroscópicamente visible, y pueden ser de cualquier tipo de transformación patológica, desde la displasia de bajo grado hasta el carcinoma invasivo.

De acuerdo con estas características, estos crecimientos solían identificarse con varios nombres, como papilomatosis biliar, colangiocarcinoma productor de mucina, tumor del conducto biliar hipersecretante de mucina y neoplasma mucinosa papilar intraductal biliar. Comparten cambios fenotípicos comunes en la tumorigénesis o la progresión tumoral y muestran pronósticos más favorables en comparación con el colangiocarcinoma no papilar. Para Wan y otros (2013), los estudios anteriores generalmente se han centrado en uno o varios aspectos de esta enfermedad y han aumentado nuestro conocimiento acerca de sus características clínico-patológicas. Esta revisión tiene como objetivo resumir este conocimiento y proporcionar una comprensión más completa de IPNB.

El IPNB (Intraductal papillary neoplasm of the bile duct se encuentra principalmente en pacientes en áreas del Lejano Oriente, como Taiwán, Japón y Corea, donde la hepatitis y la clonorquiasis son endémicas.

Wan y otros (2013) manifiestan que es una enfermedad rara, y el colangiocarcinoma papilar representa aproximadamente el 4% -38% de todos los adenocarcinomas del conducto biliar. Los informes actuales son de casos esporádicos sin tendencia a la agregación familiar. El IPNB se desarrolla más comúnmente en pacientes entre 50 y 70 años de edad y muestra diferentes preponderancias sexuales en diferentes regiones, de modo que la proporción de hombres y mujeres es de casi 1: 2 en Taiwán, 1: 1 en Japón y 2: 1 en Corea. y los países occidentales.

#### Etiología y patogenia

Wan y otros (2013) dicen que aunque la etiología específica y la patogenia no están claras, se sabe que el IPNB tiene dos factores de riesgo principales: hepatitis y clonorquiasis. Comentan que Yeh et al informaron que casi el 87% de los pacientes con IPNB tenían hepatitis en Taiwán. Otro estudio de Corea sugirió que el 31% de los pacientes con IPNB tenía hepatitis y el 18% tenía clonorquiasis, pero no hubo tal asociación en los países occidentales. Este fenómeno sugiere que los factores raciales y ambientales pueden desempeñar un papel en el desarrollo del IPNB además de los dos factores de riesgo principales.

El lapso de tiempo entre el desarrollo de hepatitis y IPNB es de 6 a 8 años, y el carcinoma intraductal *in situ* puede tardar de 1 a 2 años en evolucionar hacia una lesión invasiva. Teniendo en cuenta los resultados de tipos patológicos mixtos en cada caso, así como adenocarcinoma papilar en el fondo de adenoma papilar, es probable que un proceso de displasia celular-inflamatorios y de reparación transformación. Aproximadamente el 40% -80% de los IPNB contienen un componente de carcinoma invasivo o adenocarcinoma tubular o mucinoso, lo que sugiere que el IPNB es una enfermedad con un alto potencial de malignidad.

El estudio inmunohistoquímico de muestras extraídas quirúrgicamente, dicen Wan y otros (2013) muestra que casi todos los IPNB expresan CK7, CK20 y mucina (MUC) 5AC, que son marcadores de epitelio biliar, intestinal y gástrico, respectivamente. Este hallazgo indica que las

células tumorales IPNB retienen un inmunofenotipo biliar y obtienen inmunofenotipos intestinales y gástricos durante la carcinogénesis. La expresión de MUC1 se asocia frecuentemente con el desarrollo de lesiones invasivas, especialmente adenocarcinoma tubular, mientras que el carcinoma mucinoso generalmente se asocia con negatividad para MUC1 pero positividad para MUC2. Sasaki et al encontró que la sobreexpresión del potenciador de zeste homolog 2 podría estar asociada con un comportamiento maligno en el IPNB, en paralelo con la expresión de MUC1 regulada al alza y la expresión de MUC6 regulada a la baja. Recientemente, Nakanuma et al proporcionaron pruebas de que las glándulas peribiliares (PBG) contienen células implicadas en el origen del IPNB. Cardinale et al sugirieron que el IPNB podría surgir de células madre / progenitoras de árboles biliares (BTSC) ubicadas en PBG. En respuesta a factores de riesgo como la inflamación, los BTSC pueden sufrir una serie de cambios genéticos y progresar de displasia a carcinoma invasivo.

### Patología

Por lo general, señalan Wan y otros (2013) el IPNB aparece como masas papilares friables, singulares o de color gris-grisáceo a amarillo en cualquier lugar a lo largo del árbol biliar, y las lesiones pequeñas a veces pueden estar alejadas del tumor principal. Histológicamente, el IPNB se define por tumores que muestran proliferación papilar de células epiteliales biliares neoplásicas con tallos fibrovasculares delicados dentro del conducto biliar, la existencia macroscópica o microscópica de mucina y la dilatación del conducto biliar proximal o remoto. Hematoxilina y eosina y el perfilado inmunohistoquímica de las proteínas del núcleo de mucina se utilizan para clasificar IPNB en cuatro tipos.

El tipo pancreaticobiliar consiste en células columnares con citoplasma eosinofílico y núcleos redondos. Este tipo es a menudo positivo para MUC1 pero negativo para MUC2. El tipo intestinal se asemeja a una neoplasia vellosa intestinal, y las células neoplásicas expresan consistentemente MUC2 y MUC5AC pero no MUC1. El tipo gástrico consiste en células columnares que se parecen a las foveas gástricas que expresan MUC5AC pero son negativas para MUC1 y MUC2. El tipo oncocítico consiste en células con abundante citoplasma intensamente eosinofílico que expresan consistentemente MUC5AC con expresión focal de MUC1 y / o MUC2. El tipo pancreaticobiliar es el más común y generalmente se asocia con lesiones invasivas, mientras que los tipos oncocíticos y gástricos son raros. De acuerdo con el grado de

displasia y la profundidad de la invasión, el IPNB se clasifica en cuatro etapas: IPNB con displasia de grado bajo a intermedio; IPNB con displasia de alto grado; Colangiocarcinoma de tipo de crecimiento intraductal, estadio A1 de AJCC; y colangiocarcinoma de tipo de crecimiento intraductal, AJCC en etapa T2 o superior.

#### Manifiestación clínica

Wan y otros (2013) resaltan que las manifestaciones clínicas más comunes de los pacientes con IPNB son hipocondralgia derecha (35% -88,5%), episodios repetidos de colangitis aguda (5% -59%) e ictericia obstructiva (20% -36%). La anemia y la pérdida de peso corporal son relativamente menos comunes. Algunos pacientes son asintomáticos.

La colangitis aguda, que no es una presentación común del colangiocarcinoma convencional, es la segunda manifestación más común de IPNB. Primero, las embolias tumorales friables pueden desprenderse fácilmente de sus orígenes, lo que lleva a una obstrucción aguda del conducto biliar. En segundo lugar, a más pacientes se les diagnostica cálculos biliares en el IPNB que en el colangiocarcinoma típico. En tercer lugar, la hipersecreción de mucina macroscópica se puede observar en casi un tercio de los pacientes con IPNB. En teoría, la descarga abundante de mucina en el conducto biliar puede impedir de manera intermitente el flujo de bilis, lo que conduce a ictericia obstructiva y colangitis, que también puede causar ictericia volátil. La mayoría de los IPNB se encuentran en el hilio y el hígado izquierdo; sin embargo, a pesar de estas ubicaciones variables, el sitio primario no afecta el curso de la enfermedad o el pronóstico.

#### Pruebas de laboratorio

Wan y otros (2013) referencian que los datos de laboratorio muestran manifestaciones comunes de la obstrucción del conducto biliar tales como elevación de la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), bilirrubina total, bilirrubina directa, transpeptidas gamma-glutamil, fosfatasa alcalina, *etc* . Yeh et al encontraron que un aumento del nivel de ALT ( $> 36 \text{ U / L}$ ,  $P = 0.022$ ) en el IPNB era el único factor independiente que podía diferenciarlo del colangiocarcinoma convencional. Sin embargo, la relación específica no fue elaborada claramente, y este hallazgo no ha sido respaldado por ningún otro informe. Lee et al observaron una elevación de CA19-9 en 20 de 50 pacientes con IPNB, y el nivel medio fue

mayor en pacientes con hipersecreción de mucina. Yeh et al encontraron que se detectó un nivel elevado de CA19-9 en suero en el 35% de las lesiones benignas, mientras que el 61% de las lesiones malignas tenían niveles elevados; sin embargo, no hubo diferencia significativa. Por lo tanto, la elevación de CA19-9 puede deberse a colestasis común o colangitis asociada con la sobreproducción de mucina. Además, se detectó un nivel elevado de CEA en casi el 25% de los IPNB malignos, por lo que el CEA puede ser de algún valor para diferenciar el colangiocarcinoma papilar intraductal de sus lesiones precursoras.

### Características de imagen

Los hallazgos de imagen preoperatorios anormales más comunes para IPNB son las masas intraductales y la participación de la dilatación del conducto biliar. Wan y otros (2013) reseñan que la dilatación simultánea del conducto biliar proximal y distal se puede detectar en algunos casos, lo que tiene importancia diagnóstica. Patrones de imagen pueden clasificarse específicamente en cinco subtipos. El tipo 1 muestra una dilatación difusa del conducto con una masa intraductal muy visible (45,4%). El tipo 2 muestra ectasia difusa y marcada del conducto como en el tipo 1, pero sin una masa visible (23,7%). El tipo 3 muestra una masa papilar intraductal con dilatación localizada del conducto (19,6%). El tipo 4 muestra una dilatación ductal leve con lesiones intraductales en forma de yeso (4,1%). El tipo 5 muestra una lesión focal similar a una estenosis con dilatación leve del conducto proximal (7,2%).

### Ultrasonido y ecografía

El ultrasonido es sensible para la detección de dilatación del conducto biliar, pero afirman Wan y otros (2013) solo es capaz de detectar una masa de bajo eco en casi el 41,2% de los casos. Aunque ayuda a diferenciar una piedra de un tumor en la mayoría de los casos, la precisión del ultrasonido depende de la habilidad del investigador. Además, la presencia de mucina no se puede detectar en la ecografía porque es tan anecoica como la bilis. La ecografía endoscópica (EUS) y la ecografía intraductal (IDUS) son útiles para evaluar la profundidad de la invasión y la afectación de los ganglios linfáticos incluso en presencia de mucina gruesa, lo cual es importante para juzgar la resecabilidad y predecir el pronóstico. Por lo tanto, es difícil distinguir entre el grosor de la pared inflamatoria y la diseminación superficial de un tumor utilizando EUS o IDUS.

La tomografía computarizada (TC) según Wan y otros (2013) puede detectar tumores de más de 1 cm y conductos biliares dilatados, y su sensibilidad es del 50%. El patrón de mejora de un tumor está relacionado con el volumen sanguíneo del tumor y el flujo sanguíneo, así como con la prevalencia del espacio estromal. El IPNB generalmente se limita a la mucosa del conducto biliar y se suspende en pequeños tallos fibrovasculares, por lo que con mayor frecuencia muestra un lavado en el escaneo de realce en lugar del realce progresivo o progresivo observado para el colangiocarcinoma convencional. El IPNB aparece como una señal ligeramente más baja que el parénquima hepático en T1WI y como una señal ligeramente más alta en T2WI en el escaneo axial de imágenes de resonancia magnética (IRM). El patrón de mejora en la RM es similar a la tomografía computarizada. Ni la TC ni la RM pueden detectar la presencia de mucina.

### Colangiografía

El IPNB a menudo afecta de acuerdo con Wan y otros (2013) al epitelio biliar de forma difusa o multifocal, y la extensión real de las lesiones generalmente excede la TC, la RM y otros hallazgos de imagen convencionales. La colangiografía, incluida la colangiografía indirecta (colangiografía de resonancia magnética, MRC) y directa [colangiografía retrógrada endoscópica (ERC), colangiografía transhepática percutánea (PTC)], es útil para mostrar todo el conducto biliar para definir la extensión del IPNB. El MRC no es invasivo y puede demostrar el grado de estrechamiento o dilatación del conducto biliar y los tumores intraductales multifocales, pero no puede detectar la presencia de mucina sobreproducida. ERC y PTC pueden mostrar múltiples defectos pequeños de llenado irregular en la pared del conducto biliar. En los pacientes con sobreproducción de mucina, la mucina hipersecretada que drena a través de la ampolla y una ampolla patentada son los hallazgos característicos. En colangiografía, difusa dilatación del conducto biliar y defectos de llenado amorfos en el conducto biliar son característicos. Sin embargo, una gran cantidad de secreción y obstrucción de mucina por el tumor puede impedir la opacificación completa de todo el sistema biliar para localizar los tumores. La colangiografía no puede detectar múltiples tumores pequeños o lesiones confinadas a la mucosa y no puede diferenciar tumores de cálculos o estenosis benignas del conducto biliar.

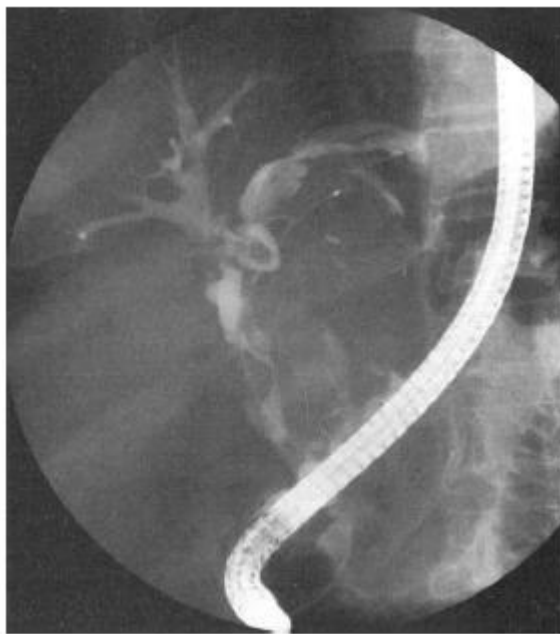


Foto 1

Colangiografía retrógrada endoscópica que muestra un defecto de llenado amorfo, lo que sugiere la presencia de mucobilia.

Tomado de Wan. (2013)

### Colangioscopia

La colangioscopia peroral (POCS) y la colangioscopia transhepática percutánea (PTCS) pueden visualizar el conducto biliar directamente y confirmar la histología y la extensión de las lesiones para asegurar que se proporcione el tratamiento adecuado. En un estudio realizado por Lee et al], el PTCS reveló lesiones adicionales en casi un tercio de los pacientes con IPNB después de los exámenes radiológicos de imágenes, incluidos ERC y MRC. Por lo tanto, se ha sugerido que la colangioscopia preoperatoria es esencial. Si el orificio papilar se dilata con o sin secreción de mucina, el POCS puede realizarse inmediatamente después del ERC, lo que resulta en un diagnóstico temprano preciso de IPNB. Este enfoque evita las complicaciones causadas por el PTCS, como el desplazamiento del catéter, la hemobilia y la siembra de tumores del tracto sinusal.

### Tomografía por emisión de posición / tomografía computarizada

El IPNB maligno con un nódulo mural grande presentará un aumento en la captación de fludeoxiglucosa. La PET con FDG tiene ventajas en la detección de metástasis a distancia insospechadas y en pacientes con disfunción renal.

### Diagnóstico diferencial

El IPNB y la falta de una manifestación clínica específica. La aplicación combinada de diferentes técnicas de imagen es muy útil. Las modalidades de imágenes no invasivas, como la tomografía computarizada y la resonancia magnética, generalmente no detectan tumores menores y mucina; por lo tanto, la colangiografía y la colangioscopia son necesarias para confirmar la patología y demostrar la extensión de las lesiones. Kang et al informaron que la precisión de la predicción de la multiplicidad macroscópica basada en los hallazgos radiológicos preoperatorios fue del 53,5%, con una tasa de falsos positivos del 25,8% y una tasa de falsos negativos del 37,7%. En el IPNB multifocal, diferentes focos pueden ser de diferentes etapas, y pueden existir hallazgos patológicos mixtos dentro de la misma lesión. Este fenómeno sugiere que el diagnóstico patológico por biopsia no puede reflejar la etapa real en muchos casos.

Tabla 1

Mayor utilidad de diferentes técnicas de imagen.

as	Técnic	Utilidad
nido	Ultraso	Detección de la dilatación del conducto biliar.
		La diferenciación de una piedra.

	Técnicas	Utilidad
IDUS	EUS /	Evaluación de la profundidad de la invasión y la afectación de los ganglios linfáticos
MRI	CT /	Detectar tumores mayores de 1 cm y dilatación del conducto biliar.
colangiografía		Diferenciación del colangiocarcinoma convencional.
Colangioscopia		Definir la extensión de los tumores.
TC	PET /	Detección y drenaje de mucina en ERC y PTC.
		Confirmar la histología y extensión de las lesiones.
		Tratamientos adyuvantes
		Detección de metástasis a distancia insospechadas.

EUS: ecografía endoscópica; IDUS: ecografía intraductal; ERC: colangiografía retrógrada endoscópica; PTC: colangiografía transhepática percutánea; TC: tomografía computarizada; RM: imagen de resonancia magnética; PET: tomografía por emisión de positrones.

Tomado de Wan. (2013).

Los diagnósticos diferenciales de IPNB incluyen colangitis piógena recurrente con cálculos en el conducto biliar, colangiocarcinomas formadores de masa y neoplasias quísticas de la mucosa biliar (MCN) (cistoadenoma / cistoadenocarcinoma). Tanto la IPNB como la colangitis piógena recurrente con cálculos en el conducto biliar involucran obstrucción biliar intermitente e incompleta y masas intraluminales o defectos de llenado en la imagen. Los tapones de mucina o las masas desprendidas pueden confundirse con piedras. Métodos invasivos como el ERC o la colangioscopia pueden ser necesarios para diferenciar estas enfermedades.

El colangiocarcinoma formador de masa aparece a menudo como una única masa intrahepática con dilatación del conducto biliar corriente arriba y un realce progresivo o progresivo en la tomografía computarizada y la imagen por resonancia magnética. Sin embargo, el IPNB usualmente aparece como lesiones papilares multifocales con dilatación del conducto biliar ascendente y descendente con o sin sobreproducción de mucina visible que muestra un lavado en la exploración de mejora. La gran mayoría de los pacientes con MCN son mujeres; El 90% de los casos son histológicamente benignos, pero tienen el potencial de recurrir y sufrir una transformación maligna. Los quistes multiloculares con separación o una apariencia de quiste en quiste son distintivos. La mucina producida por los MCN se limita y no ingresa al conducto biliar. El estroma de aspecto ovárico es el hallazgo microscópico característico. Por el contrario, no hay tal preponderancia sexual en el IPNB, y el 40% -80% de los IPNB son malignos. Los IPNB se comunican con el conducto biliar y no hay un estroma de tipo ovárico patológicamente.

#### Resección quirúrgica

Los pacientes sin metástasis a distancia se consideran para la resección quirúrgica. La IDUS o EUS preoperatoria se utiliza para la evaluación de la vía biliar extrahepática y para detectar la presencia de ganglios linfáticos. La colangioscopia se debe realizar para determinar la extensión de las lesiones y para elaborar la estrategia quirúrgica óptima. Durante la resección, la colangioscopia sistemática se realiza con biopsias por etapas y secciones congeladas. Los pacientes con IPNB localizados en el conducto biliar intrahepático se tratan con hepatectomía. Los pacientes con IPNB que involucran uno de los dos conductos biliares intrahepáticos se tratan con resección del hemiliver afectado y el conducto biliar común. Para los

IPNB localizados en la porción extrapancreática del conducto biliar, se recomienda la resección completa del conducto biliar desde la confluencia biliar a la porción intrapancreática con linfadenectomía extendida. En casos de secciones congeladas distales positivas, La resección del conducto biliar se realiza con o sin resección pancreática (resección transduodenal). Se puede realizar una resección parcial del hígado cuando una sección congelada proximal es positiva en un solo conducto intrahepático. Se ha sugerido que la linfadenectomía hilar es esencial para los tumores localizados en el hilio o en el conducto biliar común, pero se puede aplicar una política de aplicación selectiva de la lobectomía caudada y la resección de la vena porta cuando sea necesario para lograr la eliminación del tumor [40].

#### Trasplante de hígado

La resección quirúrgica puede permanecer incompleta debido al alto riesgo de recurrencia dado márgenes positivos en los casos con diseminación de mucosa superficial o recurrencia en el conducto biliar remanente debido a la alta incidencia de afectación multifocal. La resección de todo el árbol biliar mediante trasplante hepático y duodenopancreatectomía puede considerarse en teoría como el único tratamiento curativo. Hasta ahora, informes de casos, en este enfoque indican que los pacientes con ganglios linfáticos positivos o invasión de tumores importantes o comorbilidades graves asociadas no han sido elegibles para el trasplante de hígado. Sin embargo, la evaluación preoperatoria suele ser insuficiente para la mayoría de los IPNB. Por lo tanto, una estrategia de resección inicial para seleccionar pacientes sin ganglios linfáticos positivos o invasión tumoral avanzada mediante análisis definitivo de la muestra que realmente se beneficiaría de un trasplante de hígado posterior parece ser razonable.

#### Tratamiento paliativo

En caso de que la cirugía mayor no esté indicada, se recomiendan tratamientos paliativos. El tubo intrahepático paliativo o el drenaje biliar transhepático percutáneo pueden aliviar la ictericia y la colangitis para prolongar la supervivencia. Recientemente, nuevos enfoques como la ablación colangioscópica percutánea con láser, la electrocoagulación colangioscópica, la terapia intraluminal con iridio 192 y la coagulación con plasma de argón también son útiles para mejorar la supervivencia.

El pronóstico de los pacientes con IPNB ha sido consistentemente mejor que en aquellos con colangiocarcinoma de vías biliares convencionales, y este hallazgo puede estar relacionado con la biología inherente de IPNB o su patrón de crecimiento principalmente intraductal. Asimismo, existe una heterogeneidad significativa entre estos tumores. A continuación resumimos varios factores que afectan la supervivencia del paciente con IPNB.

#### Puesta en escena

No existía un sistema de estadificación uniforme para el IPNB antes de la clasificación de la OMS de 2010. Sin embargo, parece estar claro que la supervivencia global y la supervivencia sin recurrencia de los pacientes con IPNB es peor a medida que se avanza desde la displasia de bajo grado hasta el carcinoma invasivo en la escala patológica]. Rocha et al encontró que tanto la profundidad de la invasión y porcentaje de componentes de carcinoma invasivo correlacionados con la supervivencia. La profundidad de la invasión, clasificada como  $\geq 5$  mm,  $<5$  mm o ninguna, se asoció con supervivencias de 39, 128 y 144 meses, respectivamente ( $P < 0,007$ ). Además, el porcentaje de componentes de carcinoma invasivo, calificados como  $\geq 10\%$ ,  $<10\%$  o ninguno, se asoció con supervivencias de 42 meses, 128 meses y 144 meses, respectivamente ( $P < 0,03$ ).

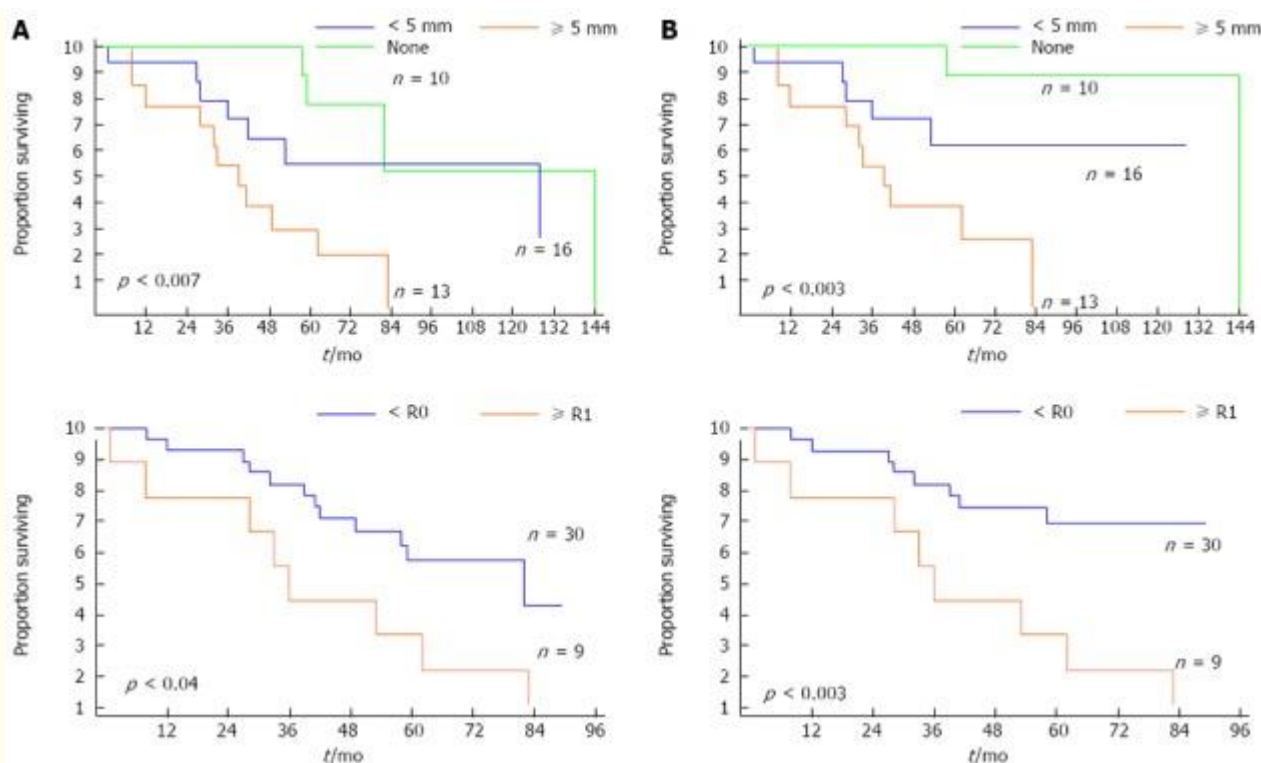


Figura 3

Estimaciones de supervivencia de Kaplan-Meier de la supervivencia general (A) y supervivencia específica de la enfermedad (B) según la profundidad de la invasión extraductal (ninguna, <5 mm y  $\geq$  5 mm) y el tipo de resección (R0 frente a R1).  $P < 0.05$  fue considerado significativo.

Fuente: Wan. (2013)

### Subtipos histológicos

Señalan Wan y otros (2013) que Kim et al estudiaron un grupo de 97 pacientes con IPNB y encontraron que los subtipos histológicos de IPNB estaban asociados con diferentes características y pronósticos clínico-patológicos. Específicamente, el tipo pancreaticobiliar era distinto de los tipos gástrico e intestinal con respecto a los grados histológicos más altos, más metástasis en los ganglios linfáticos, más recurrencias postoperatorias y peores resultados clínicos. El grupo que expresa MUC1-high mostró una supervivencia más corta, específica para la enfermedad y sin recurrencia, que el grupo que expresaba MUC1-low. Además, los pacientes

con carcinoma mucinoso mostraron un mejor pronóstico en comparación con los pacientes con adenocarcinoma tubular].

#### Resección curativa

Wan y otros (2013) dicen que Lee et al informaron que la tasa de supervivencia libre de enfermedad para los pacientes sometidos a resección curativa fue del 81% a los 5 años en un grupo de 58 casos de IPNB, y el período de supervivencia promedio fue de  $60.87 \pm 5.86$  meses (IC 95%: 49.38-72.36), mientras que fue de  $36.72 \pm 6.61$  meses (IC del 95%: 23.77-49.67) en pacientes que se sometieron a tratamientos paliativos como el drenaje biliar transhepático percutáneo (PTD). Rocha et al encontró que R0 resección se asoció con un mejorado el tiempo de supervivencia media de 82 mo en comparación con 36 mo en el grupo de resección R1. Los márgenes de resección positivos se asociaron fuertemente con tasas de supervivencia generales más cortas y sin recurrencia, incluso para la displasia de grado bajo a intermedio.

#### Metástasis ganglionar

La metástasis en los ganglios linfáticos es rara en IPNB en etapa temprana. Incluso en pacientes con carcinoma invasivo, es relativamente menos común que el colangiocarcinoma convencional. Yeh et al [ 5 ] encontraron que los tiempos medios de supervivencia con IPNB maligno con y sin metástasis en los ganglios linfáticos fueron  $12.1 \pm 5.1$  meses (IC 95%: 2.0-22.0) y  $39.0 \pm 6.7$  meses (IC 95%: 25.9-52.1), respectivamente.

Se ha observado a criterio de Wan y otros (2013) una alta tasa de recurrencia después de la resección quirúrgica. La evaluación preoperatoria incompleta de la extensión del IPNB podría ser un factor contribuyente importante. Debido a que los pequeños tumores papilares pueden no detectarse por métodos radiológicos convencionales, estas lesiones no detectadas, que generalmente están alejadas del tumor principal, pueden ser los focos de recurrencia]. Además, los márgenes positivos relacionados con el patrón de extensión superficial del IPNB pueden ser la causa de la recurrencia en muchos casos. La tasa de recurrencia a los 5 años en IPNB benignos se ha reportado en casi el 20%, que aumenta a 60% en los casos malignos, y la mayoría de las recurrencias son locorregionales. Por lo tanto, para mejorar el pronóstico, es esencial la evaluación preoperatoria completa de la extensión de la enfermedad; y para detectar las recidivas,

se recomiendan citas de seguimiento programadas cada 3 meses durante el primer año y cada 6 meses a partir del segundo año. El MRC es el método de imagen óptimo, mientras que la colangioscopia también se puede realizar por vía percutánea o bucle yeyunal.

### Discusión

Estudios recientes han revelado sorprendentes similitudes entre el IPNB y la neoplasia mucinosa papilar intraductal pancreática (IPMN). En ambos órganos, estas neoplasias surgen dentro del sistema de conductos y muestran un patrón de crecimiento predominantemente intraductal macroscópicamente y la proliferación papilar con delicados núcleos fibrovasculares y cuatro tipos de células tumorales microscópicamente, asociación ocasional con lesiones múltiples, posible progresión a adenocarcinoma tubular y carcinoma mucinoso, y Comportamientos biológicos más favorables y resultados clínicos. En base a estas similitudes, el IPNB se reconoce como una contraparte biliar de la IPMN y se puede diferenciar del colangiocarcinoma convencional. Sin embargo, hay varias diferencias entre IPNB y IPMN. El fenotipo más frecuente es intestinal en IPMN pero pancreaticobiliar en IPNB. que se asocia más a menudo con el carcinoma invasivo. La otra diferencia importante entre IPNB e IPMN es con respecto a la hipersecreción de mucina. La mucina es identificable macroscópicamente en la mayoría de los casos de IPMN pero solo en un tercio de los casos de IPNB. Teniendo en cuenta la existencia de células caliciformes (una de las células productoras de mucina) y la expresión de proteínas de núcleo de mucina de tipo secretor, como MUC2 y MUC5AC, esta diferencia podría deberse a la cantidad de producción de mucina.

Ohtsuka et al, menciona Wan y otros (2013) separaron el IPNB con o sin hipersecreción de mucina en dos grupos, y encontraron que eran similares en términos de características clínicas, pero algo diferentes en los hallazgos patológicos. El IPNB sin hipersecreción de mucina mostró un patrón de crecimiento tubulopapilar y un grado uniforme de atipia citoarquitectónica en todo el neoplasma, que fue diferente de las transformaciones patológicas mixtas en el IPNB con hipersecreción de mucina. Por lo tanto, si los IPNB con y sin hipersecreción de mucina son subtipos diferentes o son entidades clínicas distintas, es necesario realizar estudios adicionales.

En conclusión, la neoplasia papilar intraductal de la vía biliar es un tumor biliar raro con mejor pronóstico que el colangiocarcinoma convencional. Su mecanismo específico de patogénesis y progresión aún no se ha definido bien, y sus características clínico-patológicas son similares a las de la IPMN. La resección curativa es el tratamiento principal y un factor favorable importante para la supervivencia a largo plazo, especialmente en pacientes con IPNB en estadio temprano.

### Síntesis

La neoplasia papilar intraductal del conducto biliar (NPI) es una variante del carcinoma del conducto biliar que se caracteriza por un crecimiento intraductal y mejores resultados en comparación con el colangiocarcinoma común. Los IPNB se encuentran principalmente en pacientes de áreas del Lejano Oriente, donde la hepatitis y la clonorchiasis son endémicas.

De acuerdo con los perfiles inmunohistoquímicos de las proteínas del núcleo de la mucina, los IPNB se clasifican en cuatro tipos: pancreaticobiliar, intestinal, gástrico y oncocítico. Aproximadamente el 40% -80% de los IPNB contienen un componente de carcinoma invasivo o adenocarcinoma tubular o mucinoso, lo que sugiere que el IPNB es una enfermedad con un alto potencial de malignidad. Es difícil hacer un diagnóstico preoperatorio preciso debido a la baja incidencia de IPNB y la falta de especificidad en su manifestación clínica. Los hallazgos de IPNB preoperatorios anormales más comunes son las masas intraductales y la afectación de la dilatación del conducto biliar. La dilatación simultánea del conducto biliar proximal y distal se puede detectar en algunos casos, lo que tiene importancia diagnóstica.

La colangiografía y la colangioscopia son necesarias para confirmar la patología y demostrar la extensión de las lesiones. Sin embargo, el diagnóstico patológico por biopsia no puede reflejar la etapa real en muchos casos porque diferentes focos pueden tener diferentes etapas y porque pueden existir hallazgos patológicos mixtos en la misma lesión. La resección quirúrgica es el tratamiento principal. Se recomienda la colangioscopia sistemática con biopsias por etapas y secciones congeladas durante la resección para asegurar que no queden tumores menores y que se logre la resección curativa. Estadificación, subtipo histológico,

#### **4.1.7 Estudio 7**

Maylee, Sasaki, Saya, Yasunori y Yasuni (2013) afirman que los colangiocarcinomas (CC) son tumores altamente malignos con un pronóstico sombrío, y representan entre el 10% y el 20% de las muertes por enfermedad hepatobiliar. Recientemente, se informó que las CC intrahepáticas (ICC) en particular han aumentado las tasas de incidencia y mortalidad en todo el mundo, con un aumento de la incidencia de hasta el 165% en los Estados Unidos en los últimos años.

Maylee y otros (2013) dicen que aunque las ICC generalmente surgen en el hígado normal, la colangitis crónica, que puede ocurrir en el contexto de la hepatolitiasis o la colangitis esclerosante primaria, en ocasiones precede al desarrollo de la ICC. Los CC que surgen en la colangitis crónica progresa a través de 2 tipos de lesiones biliares preneoplásicas o neoplásicas tempranas: tipos plana y papilar. El primer tipo se caracteriza por una neoplasia intraepitelial biliar (BilIN), anteriormente llamada displasia epitelial biliar.

Este tipo se identifica con frecuencia en la hepatolitiasis y también se ha identificado en pacientes con colangitis esclerosante primaria, cirrosis alcohólica y hepatitis C con y sin ICC. De acuerdo con los criterios para BilIN, BilIN - 1 corresponde a displasia de grado bajo, BilIN - 2 corresponde a displasia de grado alto y BilIN - 3 corresponde a carcinoma no invasivo o in situ ; y se ha propuesto una progresión escalonada a través de BilIN-1, BilIN-2 y BilIN-3 a ICC invasiva en hepatolitiasis.

El progreso reciente aclaran Maylee y otros (2013) sugiere que el tracto biliar y el páncreas tienen características patológicas similares; por ejemplo, hay muchas similitudes entre BilIN y PanIN, neoplasia papilar intraductal del conducto biliar (IPNB) y neoplasia mucinosa papilar intraductal del páncreas (IPMN). Varios estudios indican que el árbol biliar contiene compartimientos de células madre para el hígado, el páncreas y el conducto biliar que persisten hasta la edad adulta.

El tracto biliar ejerce el potencial de diferenciación pancreática; y el conducto pancreático ventral, que eventualmente se convierte en el conducto pancreático principal, se origina en el conducto biliar común. El origen común puede explicar la similitud de las enfermedades que ocurren tanto en el tracto biliar como en el páncreas. Dentro del modelo pancreático, la mutación del homólogo del oncogén viral del sarcoma de la rata v-Ki- ras 2 ( *KRAS* ), la

mutación de la proteína 53 del tumor (p53) y la vía de señalización del hedgehog sónico se han implicado como actores clave en la carcinogénesis pancreática.

*KRAS* mutación explican Maylee y otros (2013) es un evento temprano dentro PanIN y se produce en hasta el 90% de principios PanIN y en el 95% de los adenocarcinomas pancreáticos (PDAC). En contraste, la mutación p53 es un evento tardío en PanIN y está presente en la mayoría de los PDAC. Un informe reciente ha demostrado que más del 99% de la fase más temprana, más bajo grado, lesiones PanIN-1 contenía mutaciones en *KRAS*, 2A inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (*p16 / CDKN2A*), *GNAS* locus complejo (*GNAS*), o v-raf murino sarcoma viral oncogén homólogo B1 (*BRAF*). *GNAS* codifica la subunidad  $\alpha$  de la proteína G estimulante (*G $\alpha$ s*), que media la regulación de la actividad de la adenilato ciclasa a través de los receptores acoplados a la proteína G.

Según se informa, las mutaciones activadoras de *GNAS* son prevalentes en adenomas hipofisarios y en neoplasmas mucinosos papilares intraductales del páncreas, mientras que están ausentes o son poco frecuentes en la mayoría de los otros tipos de tumores. Ha habido pocos estudios sobre la mutación *GNAS* en CC ; y, a nuestro entender, no se han realizado estudios sobre BilIN.

Se ha planteado la hipótesis de que las glándulas del conducto pancreático (PDG) dan lugar a PanIN. También informan Maylee y otros (2013) que las glándulas peribiliares (PBG) floridas, reactivas y atípicas a menudo se observan en la hepatolitiasis que precede al desarrollo de CC. Dada la morfología similar a los PDG, los PBG también pueden participar en el desarrollo de metaplasia biliar y neoplasia. El papel y las alteraciones genéticas de las PBG como posibles precursores de CC aún no se han investigado.

Debido a las similitudes entre el precursor y las lesiones de fondo en el estudio de Maylee y otros (2013) fueron involucradas en PDAC y CC, en este estudio, se investigó el papel de las principales vías moleculares asociadas a PanIN-PDAC (*KRAS*, *GNAS*), y p53) en BilIN, PBGs y ICCs. La hipótesis es que mutaciones similares presentes en la secuencia de carcinoma pancreático PanIN también pueden desempeñar un papel en la colangiocarcinogénesis. Aunque actualmente existe un mayor reconocimiento y detección de la presencia de BilIN en enfermedades biliares crónicas, pocos estudios han investigado el estado de mutación

de *KRAS* y *GNAS* en las lesiones de BilIN durante la progresión gradual hacia la ICC. En este estudio, examinamos el estado de mutación de *KRAS* y *GNAS* y la expresión de p53 en BilIN y PBG en pacientes con hepatolitis y ICC.

## **Materiales y métodos**

### Selección de pacientes

#### **Hepatitis**

Los pacientes con hepatitis que asistieron al Hospital Universitario de Kanazawa e instituciones afiliadas desde 1980 hasta 2009 fueron encuestados y sus lesiones se clasificaron en los siguientes tipos: conducto biliar grande no neoplásico (LBD), PBG, BilIN - 1, BilIN - 2, BilIN- 3, y ICC. El Comité de Ética de la Universidad de Kanazawa aprobó este estudio.

#### **No hepatitis colangiocarcinoma intrahepático y otros carcinomas del tracto pancreático-biliar**

Los pacientes que fueron diagnosticados entre 1990 y 2010 con ICC (n = 56), CC extrahepática (ExCC) (n = 42), carcinoma pancreático (n = 34) y carcinoma de vesícula biliar (n = 13) fueron revisados y seleccionados de los archivos del Hospital Universitario de Kanazawa y se utiliza para la comparación.

#### **Grupo de control**

Los conductos biliares normales y las glándulas periféricas de 10 hígados con enfermedad hepática o biliar no primaria, ya sea de muestras de resección o muestras de autopsia, también se utilizaron como controles. Estas muestras se fijaron en formalina tamponada al 10% y se incluyeron en parafina, y se cortaron de cada bloque de parafina 10 secciones seriales de 3  $\mu$ m delgadas y 5 series de 10  $\mu$   $\mu$ m delgadas sobre portaobjetos recubiertos con membrana para microdissección con láser.

Microdissección y análisis de mutaciones *KRAS* y *GNAS*.

Las lesiones de los conductos biliares y las PBG, reseñan Maylee y otros (2013), se microdisecionaron utilizando el sistema de microdissección láser Leica AS LMD (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes de secciones secadas al aire, con hematoxilina y teñidas con eosina, de 10  $\mu\text{m}$  en láminas recubiertas con membrana. El ADN genómico se extrajo luego de los tejidos microdisecionados utilizando el kit QIAamp DNA Micro (Qiagen, Hilden, Alemania). Para los PDAC e ICC, se observaron tejidos tumorales y se desecharon 2 o 3 secciones seriales completas (3  $\mu\text{m}$ ) y se aisló el ADN utilizando el KIT de ADN QIAMP (Qiagen). El ADN aislado se sometió luego a la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región del *KRAS.2* genes que contenían los codones 12 y 13.

Los cebadores directo e inverso fueron de acuerdo con Maylee y otros (2013) 5'-AGGCCTGCTGAAAATGACTG - 3' y 5'-ATCAAAGAATGGTCCTGCAC - 3', respectivamente. Las amplificaciones se realizaron por desnaturalización inicial a 94 ° C durante 3 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 1 minuto, recocido a 58 ° C durante 1 minuto y extensión a 72 ° C durante 1 minuto; seguido de una extensión final de 10 minutos a 72 ° C utilizando TaqDNA polimerasa (Takara EX Taq; Takara Bio, Kyoto, Japón).

Debido a las bajas concentraciones de ADN en la mayoría de las muestras, Maylee y otros (2013) indican que se realizó una segunda vuelta, PCR de 20 ciclos en las mismas condiciones descritas anteriormente utilizando un par de cebadores de PCR anidados con los cebadores directo e inverso 5' - GCCTGCTGAAAATGACTGAA - 3' y 5'-GAATGGTCCTGCACCAGTAA - 3', respectivamente. Además, amplificación por PCR de la región del *GNAS*. La codificación del gen codón 201 se realizó utilizando los cebadores directo e inverso 5'-ACTGTTTCGGTTGGCTTTGGTGA-3' y 5'-AGGGACTGGGGTGAATGTCAAGA - 3', respectivamente. Estos productos de PCR se purificaron luego utilizando el kit de purificación de PCR Qiagen y se secuenciaron utilizando el kit de secuenciación cíclica Big Dye y el secuenciador ABI 310 (Applied Biosystems, Forster City, California).

#### Inmunohistoquímica

La tinción inmunohistoquímica en los casos seleccionados descritos anteriormente se realizó utilizando el anticuerpo M7001 para p53 (dilución 1: 100). En resumen, después del

tratamiento previo utilizando un microondas con tampón de citrato, pH 6.0, a 95 ° C durante 20 minutos y bloqueando la peroxidasa endógena, las secciones se incubaron con el anticuerpo primario a 4 ° C durante la noche.

La solución Envision + para ratón y conejo, señalan Maylee y otros (2013) se aplicó luego durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se observaron los productos de reacción usando 3-3'-diaminobenzidina tetraclorhidrato (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Las secciones se tiñeron ligeramente con hematoxilina. Se aplicaron diluciones similares de control de inmunoglobulina G de ratón o conejo en lugar del anticuerpo primario como control negativo. Se incluyeron rutinariamente controles positivos y negativos. La expresión de p53 se calificó como positiva según la presencia de tinción nuclear en > 25% de la lesión.

#### Análisis estadístico

La prueba de la suma de rangos de Wilcoxon se utilizó para el análisis estadístico de las diferencias en estudios en humanos. Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

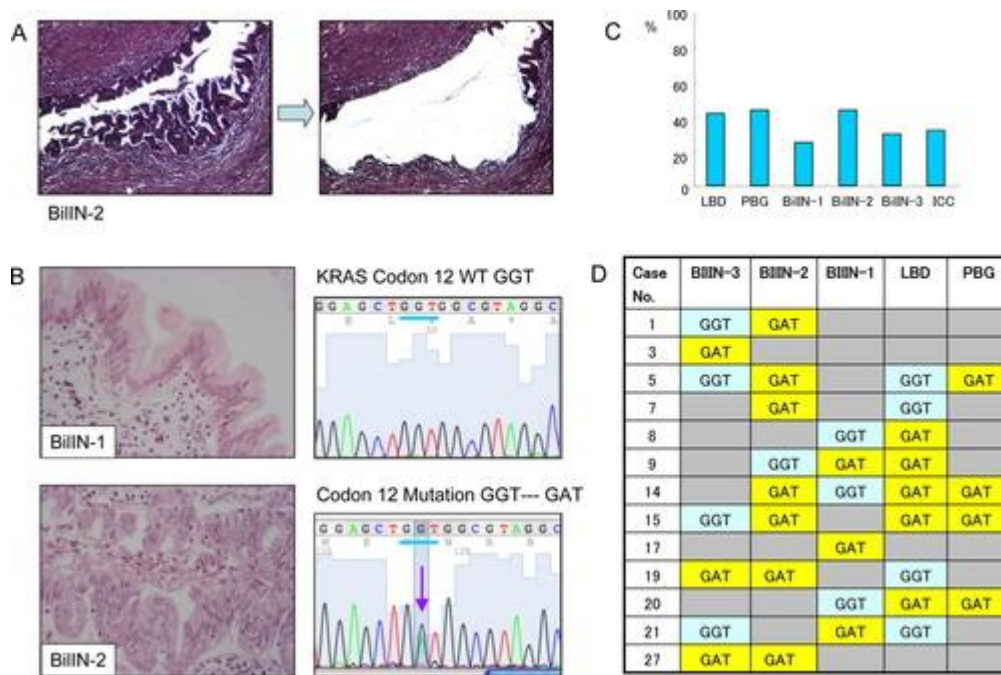
#### Resultados

##### Mutación *KRAS*

Maylee y otros (2013 expresan que entre los pacientes que tenían hepatolitiasis, 30 tenían bloques de parafina disponibles. Veintisiete bloques revelaron hepatolitiasis con BilIN, y los 3 bloques restantes revelaron hepatolitiasis sin BilIN. De estos pacientes, 12 pacientes con lesiones LBD, 9 con lesiones PBG, 12 con lesiones BilIN-1, 16 con lesiones BilIN-2 y 10 con lesiones BilIN-3 tuvieron éxito en la microdissección, extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación de ADN para evaluar el estado de la mutación *KRAS*.

Se detectaron dicen Maylee y otros (2013) mutaciones *KRAS* en 13 de 27 pacientes (48%) que tenían hepatolitiasis con BilIN, pero no se detectaron en 3 pacientes que tenían hepatolitiasis sin BilIN. Los números de *KRAS* Las mutaciones (todas las GGT a GAT en el codón 12) en cada tipo de lesión fueron las siguientes: 5 de 12 lesiones LBD, 4 de 9 lesiones PBG, 3 de 12 lesiones BilIN - 1, 7 de 16 lesiones BilIN - 2 y 3 de 10 lesiones BilIN - 3 (fig. 1). Cuatro de los 6

pacientes que tenían mutaciones *KRAS* con lesiones LBD y PBG también tenían mutaciones *KRAS* con lesiones BilIN (Fig. 1 D). Treinta y ocho pacientes sometidos a ICC se sometieron a una extracción de ADN de sección completa, amplificación por PCR y secuenciación de ADN. De estos 38 pacientes, 12 tenían mutaciones *KRAS* (GGT a GAT en el codón 12). Esto se muestra en la figura 1:



**Figura 4**

Fuente: Maylee y otros. (2013)

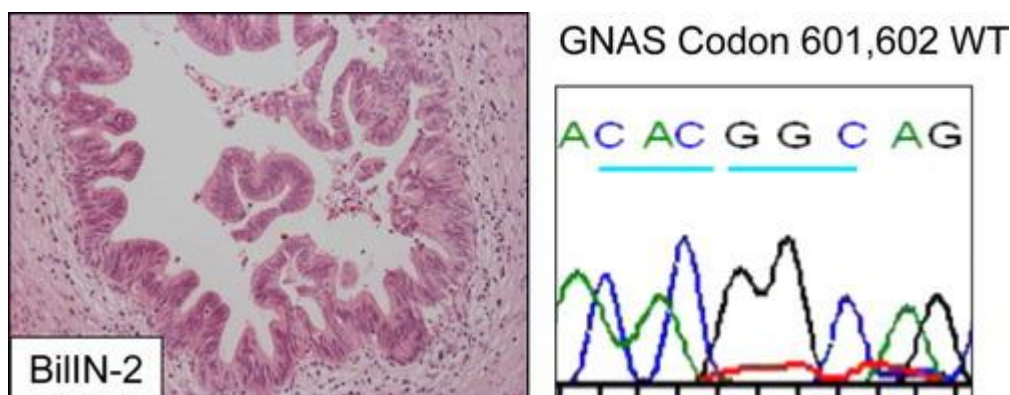
v *Ki-ras 2* Kirsten sarcoma de rata viral homólogo de oncogén (*KRAS* estado de mutación) expresan Maylee y otros (2013) (se ilustra en las muestras de neoplasia intraepitelial biliar (bilin) de pacientes con hepatolitiasis y colangiocarcinoma intrahepático (ICC). (A) Estos son ejemplos de diapositivas de BilIN (izquierda) antes y (derecha) después de la microdissección de captura con láser (tinción con H&E; ampliación original,  $\times 100$ ) (B) Estas son imágenes de (izquierda) histología representativa y (derecha) una traza de secuenciación de BilIN - 1 (displasia de bajo grado) sin mutación *KRAS* y BilIN - 2 con *KRAS* mutación.

Una flecha indica una mutación sin sentido; WT, tipo salvaje (tinción H&E; ampliación original,  $\times 100$ ). (C) La prevalencia de la mutación *KRAS* se ilustra en el conducto biliar grande

(LBD), glándula peribiliar (PBG), BilIN - 1, BilIN - 2 (displasia de alto grado) y BilIN - 3 (carcinoma no invasivo o in situ) De pacientes con hepatolitiasis y en ICC. (D) Estos son los perfiles de mutación *KRAS* de pacientes con hepatolitiasis con lesiones LBD, PBG, BilIN-1, BilIN-2 y BilIN-3. Los cuadros azules indican tipo salvaje; cajas amarillas, mutación *KRAS*; cuadros grises, un foco que no estaba disponible o no se pudo amplificar para la secuenciación.

#### Mutación *GNAS*

La mutación *GNAS* según Maylee y otros (2013) no se detectó en ninguna de las lesiones LBD, PBG o BilIN examinadas. Además, la mutación *GNAS* no se detectó en ninguna de las ICC examinadas (Fig. 2).



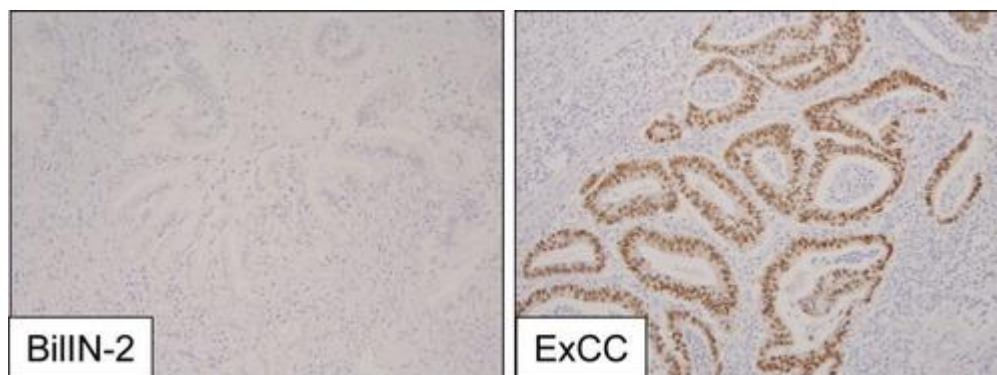
**Figura 5**

Se ilustra la mutación del locus del complejo *GNAS* (*GNAS*) en la neoplasia intraepitelial biliar (BilIN). Las imágenes muestran ( *izquierda* ) histología representativa y ( *derecha* ) una traza de secuenciación de una lesión BilIN - 2 (displasia de alto grado) sin mutación *GNAS* . WT indica tipo salvaje.

Fuente: Maylee y otros (2013)

p53 inmunohistoquímica

La sobreexpresión inmunohistoquímica de p53 comentan Maylee y otros (2013) se evaluó en 31 pacientes con lesiones BilIN-1, BilIN-2 y BilIN-3 y también en 33 ICC, 42 ExCC y 13 carcinomas de vesícula biliar. La sobreexpresión de p53 no se identificó en ninguna lesión BilIN (Fig. 3 ). La sobreexpresión de p53 fue menos frecuente en las ICC (18.2%) que en las ExCC (38.1%) (Fig. 33 ) y en los carcinomas de vesícula biliar (61.5%;  $P < .05$ ). De los 6 ICC que tenían sobreexpresión de p53, 2 también tenían una mutación *KRAS* .



**Figura 6**

La expresión de la proteína tumoral 53 (p53) se observa, prosiguen Maylee y otros (2013), en muestras de neoplasia intraepitelial biliar (BilIN) de pacientes con hepatolitiasis y colangiocarcinoma intrahepático y extrahepático (ExCC). ( *Izquierda* ) Una lesión BilIN - 2 (displasia de alto grado) es negativa para la expresión de p53. ( *Derecha* ) Un Ex - CC tiene una expresión p53 uniforme y fuerte (inmunotinción para p53 y H&E; aumento original,  $\times 200$ ).

Fuente: Maylee y otros (2013)

## Discusión

En este estudio Maylee y otros (2013) observan que las mutaciones *KRAS* participan en la progresión gradual de BilIN a ICC, similar al modelo de progresión PanIN-PDAC. Además, por primera vez, observamos que una gran proporción de lesiones BilIN (33%) tenían mutaciones *KRAS* . La prevalencia de mutaciones *KRAS* fue más alta en las lesiones BilIN - 2 en comparación con las lesiones BilIN - 1 y BilIN - 3 en este estudio. La prevalencia

de mutaciones *KRAS* fue del 31,5% en las ICC, que fue inferior a la observada en las PDAC, de acuerdo con informes anteriores.

Aunque no está claro por qué la prevalencia de *KRAS* las mutaciones difieren entre los PDAC y los ICC, para Maylee y otros (2013) es plausible que al menos algunos ICC puedan asociarse con una mutación *KRAS* como un evento temprano en la carcinogénesis.

Además, afirman Maylee y otros (2013), el estudio es el primero en informar el hallazgo de mutaciones *KRAS* en aproximadamente el 40% de las lesiones LBD y PBG. Es de destacar que la mayoría de las lesiones de LBD y PBG que tenían mutaciones *KRAS* ocurrieron en pacientes que también tenían lesiones BilIN con mutaciones *KRAS*. Aunque el número de pacientes fue limitado, no se detectaron mutaciones de *KRAS* en ningún paciente con hepatolitis sin BilIN.

Estos hallazgos sugieren, en opinión de Maylee y otros (2013) que las lesiones BilIN con mutaciones *KRAS* pueden surgir de lesiones LBD y PBG que tienen mutaciones *KRAS* en pacientes con hepatolitis. Indican que no ha habido otros estudios que demuestren *KRAS* mutaciones en el fondo del conducto biliar y lesiones de PBG en pacientes con BilIN e ICC. Se ha planteado la hipótesis de que, en el páncreas, los PDG dan lugar a PanIN. Maylee y otros (2013) señalan que un estudio reciente sugirió que PanIN puede surgir en la región centroacinar-acinar, posiblemente a través de un proceso de metaplasia acinar-ductal en modelos de ratón con mutaciones *KRAS* G12D y en tejido pancreático de pacientes con PDAC familiar.

Similar al modelo pancreático, BilIN también puede surgir de lesiones LBD y PBG con mutaciones *KRAS*. Debido a que las lesiones de PBG también están presentes en el conducto biliar extrahepático y se han sugerido como precursores de ExCC, *KRAS* Las mutaciones pueden participar en la colangiocarcinogénesis de ExCC. Este punto importante queda por aclarar en el futuro cercano.

El estudio de Maylee y otros (2013) confirmó la presencia de una ruta dependiente de mutación *KRAS* en el modelo BilIN-ICC en aproximadamente el 33% de las lesiones, los otros eventos moleculares clave que ocurren en el 66% restante de las lesiones siguen siendo desconocidos. Examinamos la mutación *GNAS* como un gen candidato; sin embargo, no

detectamos ninguna mutación de *GNAS* en las ICC o en las lesiones de BilIN. Las mutaciones de *GNAS* se identifican con frecuencia en las IPMN, mientras que están ausentes o son raras en las PDAC. En un estudio reciente, se detectaron mutaciones de *GNAS* en el 9,3% de los CC asociados a la gripe hepática.

Dadas las similitudes histológicas de los IPNB y las IPMN, es posible que los IPNB también puedan albergar *GNAS* mutaciones sin embargo, no examinamos IPNB o CC asociados con IPNB.

Maylee y otros (2013) sugieren que las mutaciones *GNAS* no parecen participar en la colangiocarcinogénesis a través de lesiones precursoras planas (BilIN). Otro gen candidato que puede estar involucrado en la colangiocarcinogénesis es la leucemia mieloide / linfoide o de linajes mixtos 3 (*MLL3*), que codifica una histona-lisina N-metiltransferasa y tiene una alta prevalencia de mutación en la CC asociada a la gripe hepática.

Se requieren estudios adicionales piensan Maylee y otros (2013) para aclarar un posible papel para *MLL3*. No detectamos la sobreexpresión de p53 en las lesiones LBD, PBG o BilIN, aunque se detectó en el 18,2% de las ICC. Este hallazgo sugiere que la mutación p53 puede ser un evento tardío en la colangiocarcinogénesis, como se informó anteriormente. No se observó correlación entre la sobreexpresión de p53 y la mutación *KRAS* en este estudio.

En conclusión, la mutación *KRAS* ocurrió en aproximadamente el 33% de los pacientes que tenían BilIN y se identificó como un evento molecular temprano durante la progresión de BilIN a ICC en pacientes con hepatolitiasis, mientras que la sobreexpresión de p53 se identificó como un evento molecular tardío. Además, se observa que un subconjunto de lesiones BilIN puede surgir de lesiones LBD y PBG precursoras, en las que también observamos mutaciones *KRAS*.

## Resumen

De manera similar al modelo de secuencia de carcinoma pancreático neoplasia intraepitelial (PanIN), el colangiocarcinoma intrahepático (ICC) también sigue un proceso de carcinogénesis paso a paso a través de la lesión precursora: neoplasia intraepitelial biliar (BilIN). Para este estudio, los autores investigaron el estado de *v-Ki-ras 2 Kirsten* sarcoma de

rata viral homólogo de oncogén ( *KRAS* ) y *GNAS* locus complejo ( *GNAS*mutaciones) y tumor proteína 53 (p53) la sobreexpresión en el proceso paso a paso de colangiocarcinogenesis.

#### Métodos:

Treinta pacientes con hepatolitiasis fueron encuestados y sus lesiones se categorizaron de la siguiente manera: conducto biliar grande no neoplásico (LBD) (n = 12), glándula peribiliar (PBG) (n = 9), BilIN-1 (displasia de bajo grado); n = 12), BilIN - 2 (displasia de alto grado; n = 16) y BilIN - 3 (carcinoma no invasivo o in situ; n = 10). La mutación de *KRAS* en los codones 12 y 13 y las mutaciones de *GNAS* en los codones 601 y 602 se analizaron utilizando ADN genómico extraído de lesiones aisladas mediante microdissección por captura con láser. La expresión inmunohistoquímica de p53 también se evaluó en lesiones BilIN, ICC y colangiocarcinomas extrahepáticos (ExCC).

#### Resultados:

Se identificó una prevalencia de mutaciones *KRAS* en pacientes con ICC (31.5%), BilIN-3 (30%) y BilIN-2 (43.8%) en comparación con BilIN-1 (25%). Además, se detectaron mutaciones *KRAS* en lesiones LBD (41,7%) y lesiones PBG (44,4%), y estas mutaciones se observaron con mayor frecuencia en pacientes que tenían BilIN con mutaciones *KRAS*. Las mutaciones de *GNAS* no se identificaron en ninguna de las ICC u otras lesiones examinadas. La sobreexpresión de p53 no se identificó en las lesiones BilIN y fue menos frecuente en las ICC (18.2%) en comparación con ExCC (38.1%) y carcinomas de vesícula biliar (61.5%).

#### Conclusiones

Las mutaciones *KRAS*, que estaban presentes en aproximadamente el 33% de las lesiones de BilIN, ocurrieron como un evento molecular temprano durante la progresión de BilIN a ICC, mientras que la sobreexpresión de p53 se identificó como un evento molecular tardío. Además, los resultados actuales indicaron que BilIN también puede surgir de lesiones LBD y PBG en pacientes que tienen hepatolitiasis con mutaciones *KRAS*. Cancer 2013. © 2013 American Cancer Society.

#### 4.1.8 Estudio 8

**Adsay y otros (2016)** comentan que el término IPMN (Evaluación Patológica y reporte de neoplasias mucinosas papilares intraductales, fue creado en 1994 por Klöppel et al. para abarcar entidades reportadas anteriormente en la literatura bajo una gran cantidad de designaciones que incluyen neoplasias quísticas mucinosas ectáticas por conductos, tumores productores de mucina,<sup>4-6</sup> neoplasias papilares intraductales,<sup>7</sup> papilas Adenocarcinomas, adenomas vellosos<sup>8</sup> y otros. Desde entonces, se ha aprendido mucho sobre la naturaleza y el comportamiento de estas neoplasias distintivas; sin embargo, muchos de los criterios de diagnóstico y los protocolos de manejo siguen siendo difíciles de aplicar y algunos son muy controvertidos.

Para Adsay y otros (2016) los desafíos también se extienden, ya menudo se derivan, de la falta de criterios uniformes en la evaluación patológica, la terminología y los parámetros que se deben informar. De hecho, la ausencia de un enfoque uniforme en la patología puede ser en parte responsable de los obstáculos para una mejor caracterización de estos tumores. Por ejemplo, los términos "IPMN maligna" y "IPMN mínimamente invasiva" se han definido de manera muy variable en la literatura, lo que crea una gran confusión en la comprensión del comportamiento de las diferentes etapas de esta entidad y conduce a contradicciones importantes al establecer uniformes. Protocolos de manejo para pacientes con este tumor.

En abril de 2013, manifiestan Adsay y otros (2016) se convocó una reunión internacional en Verona, Italia, bajo el liderazgo y organización del Grupo Verona Páncreas. El equipo de patología de esta reunión de consenso tuvo la tarea de evaluar el estado actual y las posibles mejoras en la evaluación patológica de la terminología y la documentación de las IPMN, así como la determinación de parámetros clínicamente relevantes para el tratamiento de estos tumores. En consecuencia, a través del análisis de la literatura y las discusiones interdisciplinarias con varios expertos, tanto entre los participantes de la reunión como fuera de la reunión, este grupo desarrolló un consenso sobre definiciones refinadas y directrices básicas para la evaluación patológica y la notificación de IPMN, que se analizan en detalle. en este manuscrito.

Método

Se creó un grupo de tareas de patología en 2012 como preparación para la reunión de consenso que se celebrará en Verona, Italia, en abril de 2013, bajo el liderazgo del Grupo Verona Páncreas. Este grupo de trabajo consistió en un equipo interdisciplinario de participantes con interés invertido en la evaluación patológica de IPMN de conductos derivados, incluidos patólogos, cirujanos, radiólogos y gastroenterólogos (VA, MMK, TF, GZ, CLW, HM, JO, MA, MJB). El equipo se encargó de analizar el estado del diagnóstico patológico de las IPMN.

El análisis de la literatura previo a la reunión, dicen Adsay y otros (2016) se realizó especialmente enfocándose en la evaluación patológica de las IPMN, y se creó una lista de puntos de discusión con la participación de todos los miembros del equipo. Durante esta preparación, se determinó que existían grandes disparidades en la evaluación patológica, la terminología y el informe de las IPMN. Estas disparidades se presentaron a los participantes de la Reunión de Consenso en Verona en una sesión general, seguida de discusiones activas realizadas con la participación de todos los miembros de la reunión de consenso. Se llevaron a cabo discusiones adicionales en sesiones divididas. Los resultados de estas discusiones se recopilaron y presentaron a los participantes el último día de la reunión.

Después de la reunión, se llevaron a cabo análisis adicionales según lo asignado durante la reunión de consenso. Estos incluyeron el análisis de las bases de datos institucionales para los parámetros en cuestión y la investigación de los informes de patología sobre IPMN (realizados tanto en la comunidad como en instituciones expertas). La evaluación de estos informes de patología reveló que faltaban piezas de información cruciales en la gran mayoría de estos informes, incluso en instituciones donde la cirugía IPMN se realiza de manera rutinaria.

Al establecer los parámetros patológicos clínicamente relevantes, también se solicitó la consulta con otros expertos de diversas disciplinas que no habían participado en la reunión de consenso.

Por otra parte, se celebró otra reunión de consenso internacional sobre el tema de la neoplasia intraepitelial pancreática (incluidas las IPMN) en la Escuela de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, dirigida por los Dres. Ralph Hruban y David Klimstra, bajo los auspicios del Centro de Investigación del Cáncer Pancreático Sol Goldman de la Universidad Johns Hopkins en junio de 2014. Algunos de los parámetros y problemas destacados también se

discutieron durante esta reunión. Si bien las actas de esta reunión son objeto de otro manuscrito, las conclusiones que se presentan a continuación concuerdan con las conclusiones de esta última reunión.

## Resultados

Las neoplasias mucinosas papilares intraductalesl expresan Adsay y otros (2016) se definen patológicamente como neoplasias preinvasoras formadoras de masa (neoplasias tumorales intraepiteliales) que crecen dentro de los conductos del páncreas (Tabla 2) . En la clasificación de la OMS-2010, para distinguir las IPMN de los microcistos incidentales y las neoplasias intraepiteliales pancreáticas grandes (PanIN), se requirió que las IPMN tuvieran un diámetro > 1 cm.

Tabla 2

### RESECCIÓN PANCREÁTICA PARA CARCINOMAS INVASIVOS QUE SURGEN EN ASOCIACIÓN CON NEOPLASMAS INTRADUCTALES

#### Tipo de tumor

- Carcinoma invasivo que surge en asociación con una neoplasia mucinosa papilar intraductal (IPMN)
- Carcinoma invasivo que surge en asociación con una neoplasia tubulopapilar intraductal (ITPN)
- Carcinoma invasivo que surge en asociación con neoplasia quística mucinosa (MCN)
- \_\_\_\_\_

#### Tipo de carcinoma invasor

- Tubular
- Coloide
- \_\_\_\_\_

#### Grado de carcinoma invasivo

- Bien diferenciado
- Moderadamente diferenciado
- Mal diferenciado
- \_\_\_\_\_

#### **Localización del carcinoma invasivo.**

- Cabeza del páncreas
- Cuerpo del páncreas
- Cola del páncreas
- Desconocido
- \_\_\_\_\_

#### **Tamaño del carcinoma invasivo**

- Unifocal, --cm en su mayor dimensión
- Multifocal

Tamaño estimado de todos los focos en el agregado: - cm

Tamaño del foco más grande: --cm

#### **Invasión extrapancreática**

- No identificado
- Tejido blando peripancreático
- Conducto biliar común
- Pared duodenal (incluyendo la mucosa)
- Ampolla de vater
- Bazo
- Buque principal: \_\_\_\_\_
- Otros órganos: \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_

**Invasión vascular**

- No identificado
- Sospechado
- Identificado
- \_\_\_\_\_

**Invasión perineural**

- No identificado
- Identificado
- \_\_\_\_\_

**Conectividad de componentes preinvasivos e invasivos (si es documentable)**

- El carcinoma invasor está conectado al componente preinvasivo ("carcinoma invasivo derivado de IPMN")
- El carcinoma invasivo está a una distancia de cmMN de la IPMN ("carcinoma invasivo concomitante con IPMN")
- \_\_\_\_\_

**Tamaño de la neoplasia intraductal / preinvasiva**

- - cm, medido en bruto / microscópicamente
- - cm, medido clínicamente (quiste de pared delgada, ruptura parcial antes de la medición patológica)
- \_\_\_\_\_

**Diámetro máximo del conducto principal (si está identificado)**

- -- cm
- No se pudo determinar
- \_\_\_\_\_

**Nódulos papilares gruesos (en el componente preinvasivo)**

- No visto
- Presente, nódulo más grande - cm, estimado -% de la superficie del tumor
- \_\_\_\_\_

**Tipo de célula neoplasia intraductal / preinvasiva**

- Gástrico
- Intestinal
- Oncocítico
- Pancreatobiliar
- Mezclado
- Otro
- \_\_\_\_\_

**Grado de neoplasia intraductal / preinvasiva**

- Grado bajo
- Grado intermedio
- Alto grado
- \_\_\_\_\_

**Páncreas adyacente**

- Nada especial
- Atrofia leve leve moderada severa
- Fibrosis leve, moderada, severa
- Inflamación leve, moderada, grave.
- \_\_\_\_\_

**Margen del cuello (conducto pancreático)**

- Negativo

- Indeterminado para la displasia.
- Positivo para displasia, de - grado
- Positivo para invasión sospechosa
- Positivo para el carcinoma invasivo
- \_\_\_\_\_

#### **Margen retroperitoneal (SMA / uncinata)**

- Negativo
- Indeterminado para la displasia.
- Positivo para displasia, de - grado
- Positivo para invasión sospechosa
- Positivo para el carcinoma invasivo
- \_\_\_\_\_

#### **Margen de CBD**

- Negativo
- Indeterminado para la displasia.
- Positivo para displasia, de - grado
- Positivo para invasión sospechosa
- Positivo para el carcinoma invasivo
- \_\_\_\_\_

#### **Otros organos**

- El estómago no tiene nada de especial
- Exhibiciones estomacales \_\_\_\_\_
- El duodeno no es nada especial
- Exhibiciones de duodeno \_\_\_\_\_
- El bazo no es notable \_\_\_\_\_
- Exposiciones de bazo
- \_\_\_\_\_

### Ganglios linfaticos

- Número de ganglios linfáticos examinados: \_\_\_\_\_
- Número de ganglios linfáticos con metástasis: \_\_\_\_\_
- Extensión perinodal
  - Presente
  - Ausente
- \_\_\_\_\_

### Puesta en escena (AJCC 2010)

**pT1** El carcinoma invasor se limita al páncreas y tiene  $\leq 2$  cm en su dimensión mayor

T1a:  $\leq 0.5$  cm

T1b:  $> 0.5$  cm;  $\leq 1$  cm

T1c:  $> 1$  cm;  $\leq 2$  cm

**pT2**  $> 2$  El carcinoma invasor se limita al páncreas y al cm en su dimensión mayor

**pT3** El tumor se extiende más allá del páncreas pero sin la participación del eje celíaco o la arteria mesentérica superior

**Puesta en escena (AJCC 2010)**

**pT4** El tumor afecta el eje celíaco o la arteria mesentérica superior (tumor primario no resecable)

**pN0** No hay metástasis en los ganglios linfáticos regionales

**pN1** Metástasis a los ganglios linfáticos regionales

Fuente: Adsay y otros (2016)

Con las definiciones actuales, IPMN abarcan un espectro de lesiones que van desde aquellas que tienen un aspecto muy inocuo (lo que solía llamarse “hiperplasia”) hasta aquellas que son lesiones carcinomatosas intramucosas en toda regla (las que se usan para ser designado como "adenocarcinoma papilar"). Este espectro, previamente clasificado <sup>45</sup> como “hiperplasia → adenoma → límite → carcinoma *in situ* → carcinoma invasivo” se recalificó posteriormente <sup>42</sup> como “displasia de bajo grado → displasia de grado intermedio → y displasia de alto grado → carcinoma invasivo” (Tabla 3). Como tales, las IPMN representan la secuencia adenoma-carcinoma (neoplasia tumoral intraepitelial). El carcinoma invasivo que surge o es concomitante con IPMN puede ser de varios tipos (especialmente coloide o tubular), y puede ser muy limitado o extenso.

Tabla 3

## RESECCIÓN PANCREÁTICA PARA NEOPLASMAS PREINVASIVOS

**Tipo de neoplasia intraductal / preinvasiva**

- Neoplasia mucinosa papilar intraductal (IPMN)
- Neoplasia tubulopapilar intraductal (ITPN)
- Neoplasia quística mucinosa (MCN)
- \_\_\_\_\_

**Grado de neoplasia intraductal / preinvasiva**

- Grado bajo
- Grado intermedio
- Alto grado (Tis)
- \_\_\_\_\_

**Alcance de la displasia de alto grado (Tis)**

- Focal (<25% de neoplasma)
- Sustancial (25-75%)
- Difuso (> 75%)
- \_\_\_\_\_

**Invasión**

- No se identifica ninguna invasión

**Fuente:**

Las IPMN dicen Adsay y otros (2016) tienen diferentes tipos citológicos clasificados como gástricos, intestinales, pancreatobiliares y oncocíticos y se ha demostrado que estos tipos de células no solo tienen diferentes fenotipos morfológicos e inmunohistoquímicos, sino que también algunos tienen diferentes controladores genéticos<sup>46-55</sup> (ver más abajo, la sección de subtipos).

Las IPMN pueden progresar a carcinomas invasivos de diferentes tipos (ductal / tubular<sup>61</sup> y coloide / muconodular) y de grado variable. El componente invasivo de estos tumores debe considerarse y documentarse por separado (consulte la sección a continuación sobre el carcinoma invasivo para obtener más información).

#### Rama vs conducto principal IPMN: documentación de los principales hallazgos del conducto pancreático patológicamente

La clasificación de IPMN como tipo de rama (Fig. 6) versus conducto principal (Fig. 7) es de suma importancia para evaluar el riesgo de carcinoma durante el tratamiento preoperatorio de pacientes con un IPMN;<sup>40, 41, 66-74</sup> sin embargo, una vez que el tumor se reseca, naturalmente, esta separación pierde virtualmente todo su valor clínico, y en ese momento se reemplaza por la ausencia o presencia de un carcinoma invasivo asociado.

Además, Adsay y otros (2016) afirman que estudios recientes de patología han demostrado que el conducto principal no es infrecuente muestra cierto grado de participación incluso en las IPMN que eran imágenes de tipo de derivación clásica y, lo que es más importante, aquellas IPMN con una participación mínima del conducto principal, definidas como "no- La afectación circunferencial del conducto principal limitada en unas pocas secciones histológicas", fue muy similar a la de los casos de conductos ramificados y fue diferente de las IPMN del conducto principal, tanto por las características clínicoopatológicas como por el resultado clínico.<sup>77</sup> En consecuencia, para informes patológicos, se recomienda intentar documentar el diámetro más amplio del conducto principal y también la extensión de la participación del conducto principal por epitelio anormal, si es posible; sin embargo, no se requiere que los patólogos hagan una distinción específica entre los dos grupos.

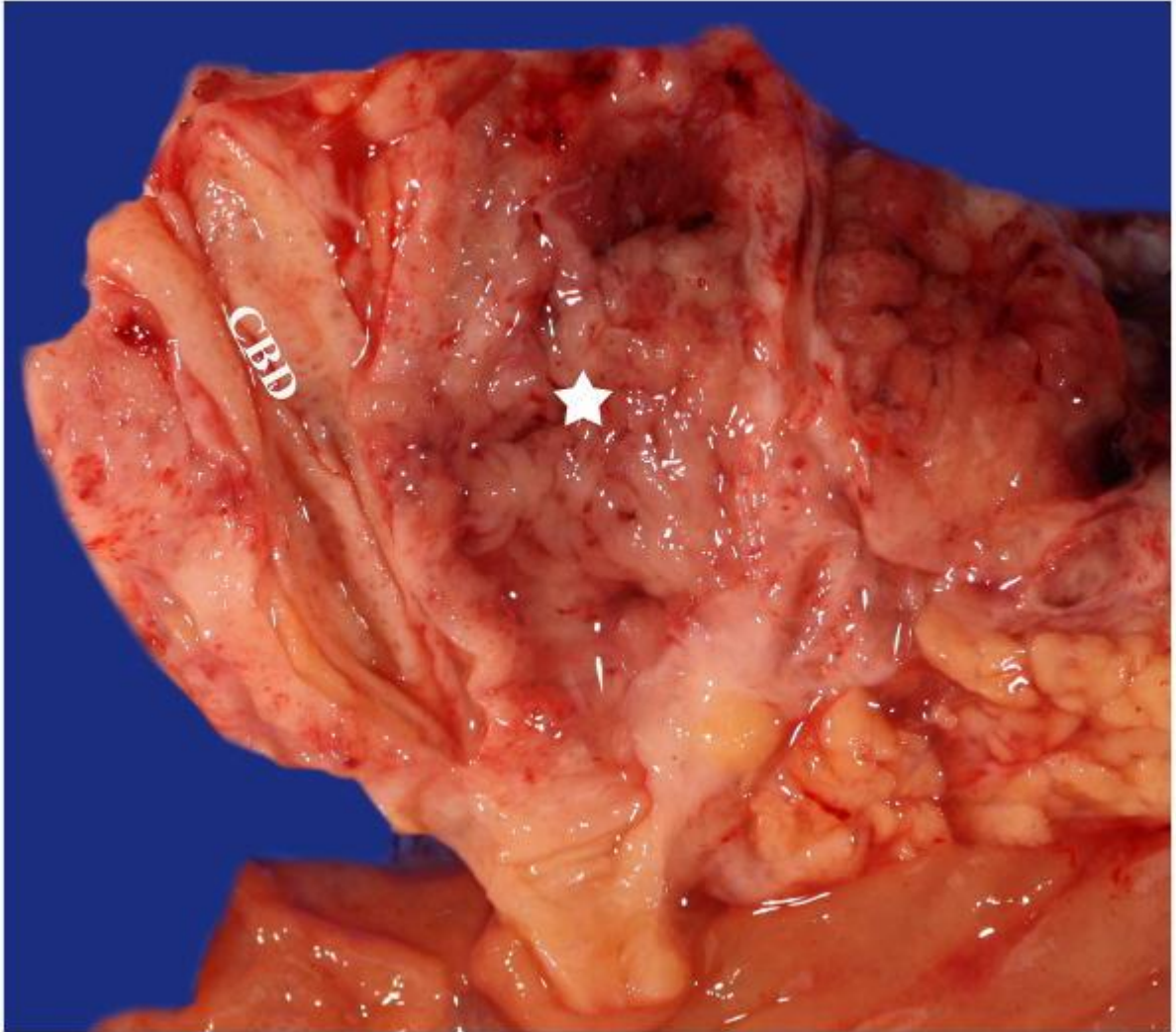


Figura 7

Conducto principal IPMN que involucra todo el conducto pancreático (estrella), lleno de proyecciones papilares friables y mucina pegajosa. Tenga en cuenta el conducto biliar común normal adyacente (CDB).

Fuente: Adsay y otros. (2016)

### Medición del tamaño global del tumor

El tamaño de una IPMN en el momento del diagnóstico y su crecimiento a lo largo del tiempo es un criterio importante en el manejo preoperatorio de las IPMN, aunque su importancia disminuye en los especímenes resecados. Independientemente, se debe hacer todo lo posible para determinar con precisión el tamaño de la lesión en el informe de patología. Esto puede ser importante no solo para evaluar el riesgo futuro, sino que también sirve como información para que los radiólogos puedan perfeccionar sus habilidades.

Sin embargo, para Adsay y otros (2016) existen desafíos para medir el tamaño de las lesiones quísticas. Algunas IPMN tienen quistes de paredes muy finas que pueden romperse entre el momento de la resección de la muestra y la medición en la sala general debido a la manipulación, disección o con fines de bancos de tumores, lo que conduce a la contracción de la lesión. Por lo tanto, para tales IPMN quísticas de pared delgada, el tamaño real debe determinarse mediante una estrecha correlación con los hallazgos de la imagen, y de hecho, si el tamaño medido en la sala bruta es menor, entonces, la medición clínica debe incluirse en el informe de patología. Por estas razones, se recomienda que el tamaño de la lesión se documente junto con el modo de medición como, por ejemplo: "*Tamaño total de IPMN: 3 cm, medido clínicamente (quiste roto durante el procesamiento)*".

La documentación del tamaño bruto de cualquier componente sólido puede ser útil, ya que los carcinomas invasivos a menudo son sólidos y el tamaño es pronóstico significativo para los cánceres invasivos. Estos también a menudo se corresponden con los "nódulos murales" detectados por imágenes preoperatorias. Para los casos con un componente sólido, nódulos papilares floridos o áreas invasivas, los estudios de imagen pueden subestimar o calcular erróneamente el tamaño global del tumor, por lo que la evaluación macroscópica y microscópica

es crucial para determinar el tamaño en tales casos. Si hay una discrepancia con el tamaño medido clínicamente, se puede intentar explicar esta discrepancia en un comentario.

En la medición física de los quistes en la sala gruesa, dicen Adsay y otros (2016) deben tenerse en cuenta ciertos aspectos. Para *lesiones unifocales pero multiloculares*, es preferible documentar el tamaño general de la colección de lóculos junto con el tamaño del lóbulo más grande. Si hay una lesión papilar, también se puede medir. Para las *lesiones multifocales*, se debe documentar el tamaño del foco más grande, al igual que los tamaños de las lesiones más pequeñas si está clínicamente indicado.

Se debe hacer todo lo posible para medir también el diámetro del conducto pancreático principal. Esto requiere una identificación adecuada del conducto principal, que puede alterarse debido a un tumor y puede resultar difícil de rastrear en una proporción significativa de los casos. Sin embargo, si el conducto principal es identificable, entonces su diámetro en el foco más amplio debe documentarse. Lo más importante es que el tamaño del componente invasivo, si está presente, debe documentarse con cuidado y por separado. Esto se discutirá en detalle en la sección de carcinoma invasivo a continuación.

#### Carcinoma invasor: evaluación y reporte

##### Significado

El determinante más importante del resultado en el manejo de los pacientes con NIPM es si está presente o no un carcinoma invasivo asociado. <sup>42, 44, 59, 87, 89 - 92</sup> Estudios recientes han demostrado de manera uniforme que la gran mayoría de las IPMN no invasivas completamente resecaadas tienen un resultado muy positivo, con una supervivencia a 5 años de > 90%, <sup>59, 87, 93</sup> mientras que La mitad de los que tienen un carcinoma invasivo asociado mueren a causa de su enfermedad. <sup>32, 33, 57, 76, 94 - 97</sup>

##### Muestreo

Un carcinoma invasivo que surge en asociación con un IPMN solo se puede excluir definitivamente con una evaluación exhaustiva no solo de la lesión completa, sino también del

páncreas no afectado, ya que el páncreas vecino a menudo muestra anomalías peritumorales y puede albergar carcinomas invasores sutiles. De hecho, el comportamiento agresivo del tumor reportado en algunos pacientes con una "IPMN no invasiva", puede deberse a carcinomas invasivos "faltantes" en las IPMN de muestra inferior.<sup>42</sup> Algunos carcinomas invasivos también surgen lejos de la lesión, y es por eso que es importante considerar a la muestra completa como sospechosa de carcinoma invasivo, realizar un examen completo y una muestra abundante de páncreas aparentemente normal.

#### Tipificación del carcinoma invasivo asociado

Los diferentes tipos histológicos de carcinoma invasivo pueden surgir de las IPMN, y estos tipos histológicos están asociados reseñan Adsay y otros (2016) con propiedades pronósticas y biológicas marcadamente diferentes. Aproximadamente la mitad de los carcinomas invasivos que surgen en asociación con un IPMN son adenocarcinomas tubulares (ductales) ordinarios ( Fig. 2), que se caracterizan por infiltrar unidades tubulares pequeñas a medianas separadas por estroma abundante. Este tipo a menudo se origina ya sea por IPMN de tipo gástrico o pancreatobiliar, y parece tener un comportamiento agresivo, aunque su pronóstico puede no ser tan malo como el de las PDAC ordinarias, ya sea debido a la detección en etapa temprana y / o a diferentes características moleculares / biológicas (aunque a menudo es morfológicamente indistinguible de los PDAC ordinarios).

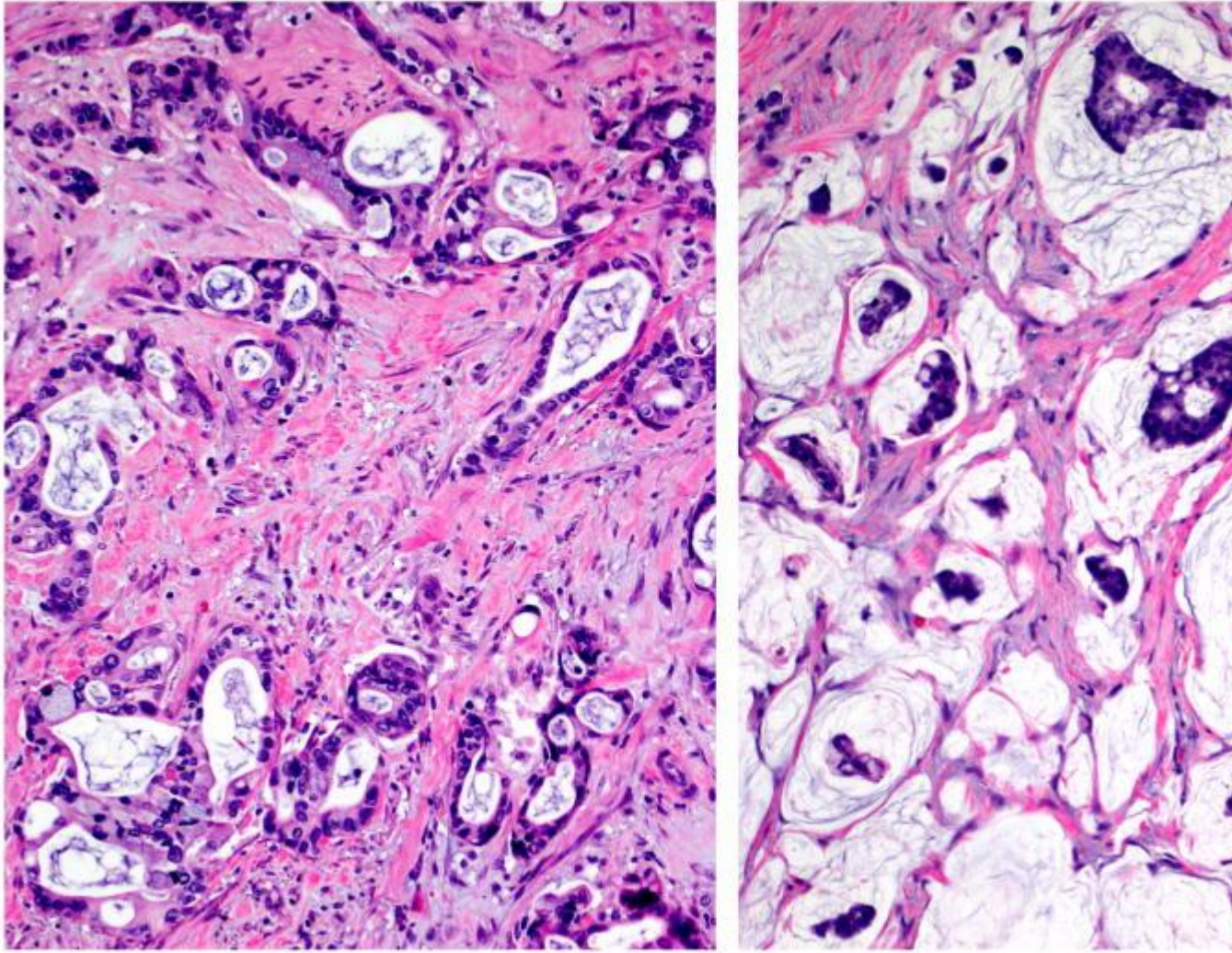


Figura 7

El carcinoma invasivo de tipo ductal (tubular) que surge en IPMN (izquierda) es virtualmente indistinguible de los adenocarcinomas ductales pancreáticos comunes, caracterizados por células atípicas que forman estructuras irregulares, a menudo complejas, tubulares o glandulares, generalmente acompañadas de estroma densa. En los contrastes, el carcinoma coloide (derecha) se caracteriza por el patrón muconodular compuesto por grupos distintos de mucina que contienen grupos escasos de células de carcinoma, que flotan dentro de la mucina (tinción de hematoxilina y eosina).

Fuente: Adsay y otros (2016)

La otra mitad de los carcinomas invasivos que surgen en asociación con IPMN son carcinomas coloides, caracterizados por invasión de tipo muconodular (nódulos de la mucina estromal que contienen grupos relativamente escasos de células de carcinoma). Los carcinomas coloides surgen típicamente del tipo intestinal de IPMN, y rara vez, si alguna vez, se ven en asociación con otros subtipos de IPMN o con neoplasias quísticas mucinosas.<sup>65, 101, 102</sup> Los pacientes con carcinomas coloides tienen un pronóstico significativamente mejor que los pacientes con carcinomas tubulares invasivos.

Además, tanto el carcinoma coloide como su precursor común, y según Adsay y otros (2016) el tipo intestinal IPMN, se caracterizan por marcadores de diferenciación de tipo intestinal (expresión difusa y fuerte del marcador epitelial intestinal, MUC2) y el marcador de diferenciación intestinal (CDX2), ninguno de los cuales se expresa sustancialmente. En cualquier otro tipo de tumor en el páncreas. Esto hace que los carcinomas coloides sean candidatos potenciales para un enfoque de manejo diferente, y de este modo acentúan la importancia de su reconocimiento y la documentación adecuada en los informes de patología.

En raras ocasiones, otros tipos de carcinoma invasivo pueden surgir en asociación con NMPI, tales como oncocítica, sarcomatoide / indiferenciadas (algunos con células gigantes tipo osteoclasto), carcinomas medular, o neuroendocrinos. Estos también deben ser reconocidos y reportados en consecuencia. Algunos carcinomas son de tipo mixto.

#### Clasificación del carcinoma invasivo

El grado histológico del carcinoma invasivo debe administrarse por separado de la clasificación del componente no invasivo. Para los carcinomas tubulares / ductales, se pueden emplear los principios empleados en la clasificación de las PDAC ordinarias. Existen diferentes esquemas de calificación con sus desafíos correspondientes, que están más allá del alcance de este manuscrito. Los lectores son referidos a la literatura apropiada.

Para la clasificación del carcinoma de tipo coloide, comentan Adsay y otros (2016) actualmente no hay pautas. La mayoría de los carcinomas coloides están bien diferenciados por defecto. Sin embargo, algunos carcinomas mucinosos en el páncreas exhiben una celularidad significativamente más prominente, atipia citológica y células adheridas al estroma. Estas tienden

a ser neoplasias más agresivas. En tales casos, debe considerarse la posibilidad de un carcinoma mucinoso de tipo no coloide derivado de la ampolla, como el carcinoma en anillo de sello mucinoso o carcinoma mixto mucinoso-intestinal, o un adenocarcinoma ductal pancreático con producción excesiva de mucina.

#### Tamaño del carcinoma invasivo

Como en cualquier otro tipo de cáncer, el tamaño (y la etapa) del carcinoma invasivo es uno de los parámetros pronósticos más importantes en las IPMN. Desafortunadamente, muchos estudios no han podido analizar esto como un parámetro separado. De hecho, nuestra revisión de la literatura destacó el desafortunado hecho de que el tamaño del tumor en general (con componentes no invasivos e invasivos agrupados) a menudo se usa de manera intercambiable con el tamaño del carcinoma invasivo.

El consenso en la reunión de Verona fue que es imperativo medir el tamaño del carcinoma invasivo con la mayor precisión posible y, si esto no se puede lograr (debido a un muestreo fragmentado o multifocalidad), al menos para dar una estimación de la invasión. tamaño. El componente invasivo debe clasificarse, independientemente del componente no invasivo, como en cualquier otro cáncer (consulte la discusión más abajo sobre la estadificación).

Si el carcinoma invasivo es *unifocal*, la recomendación es medir el mayor diámetro del foco invasivo, como se hace para cualquier carcinoma invasivo en este órgano y en otros órganos sólidos. Se discutió una posibilidad alternativa de medir la "profundidad" del conducto más cercano, pero se descartó porque a menudo es imposible determinar dónde se ubica el conducto más cercano en secciones histológicas bidimensionales.

Para los tumores *multifocales*, se recomienda que se proporcionen tanto el diámetro del diámetro más grande como el tamaño total estimado de todos los focos en el agregado en el comentario del informe (Sinóptico 1). Como en otros órganos, como la mama, aún no está claro cuál de estos refleja mejor la carga del tumor y, por lo tanto, debe tomarse como el tamaño del tumor principal.

#### Indeterminado (sospechoso) por invasión

Debido a la complejidad de las lesiones intraductales y su extensión común a los conductos más pequeños vecinos, Adsay y otros (2016) manifiestan que las IPMN no invasivas a menudo muestran una complejidad arquitectónica notable con un aspecto pseudoinvasivo. Esto es especialmente sorprendente en las lesiones del conducto principal (del tipo intestinal) donde la atrofia y la fibrosis del parénquima pancreático circundante pueden ser prominentes, acentuando aún más el patrón pseudoinvasivo. Los cambios previos en el sitio de la biopsia y la inflamación también contribuyen y acentúan este desafío. Por separado, la ruptura de los conductos puede conducir a la extrusión de mucina en el estroma. Esta mucina acelular no es un carcinoma invasivo, pero en algunos casos puede ser muy difícil distinguirlo del verdadero carcinoma coloide invasivo (Figura 8). Como resultado, en algunos casos, puede ser extremadamente difícil determinar si un enfoque es invasivo o pseudoinvasivo.

Para tales casos, el diagnóstico de "indeterminado para la invasión" debe ser procesado. Esto correspondería a la categoría "sospechoso de invasión" de la clasificación de Viena de notificación de tumores malignos gastrointestinales. Todavía no se conocen las implicaciones clínicas y el comportamiento de tales casos de IPMN; sin embargo, es cierto que algunos casos no pueden clasificarse definitivamente como invasivos en lugar de no invasivos y, por lo tanto, esta categoría es necesaria. En tales casos, el tamaño estimado de un foco sospechoso se debe proporcionar en un comentario.

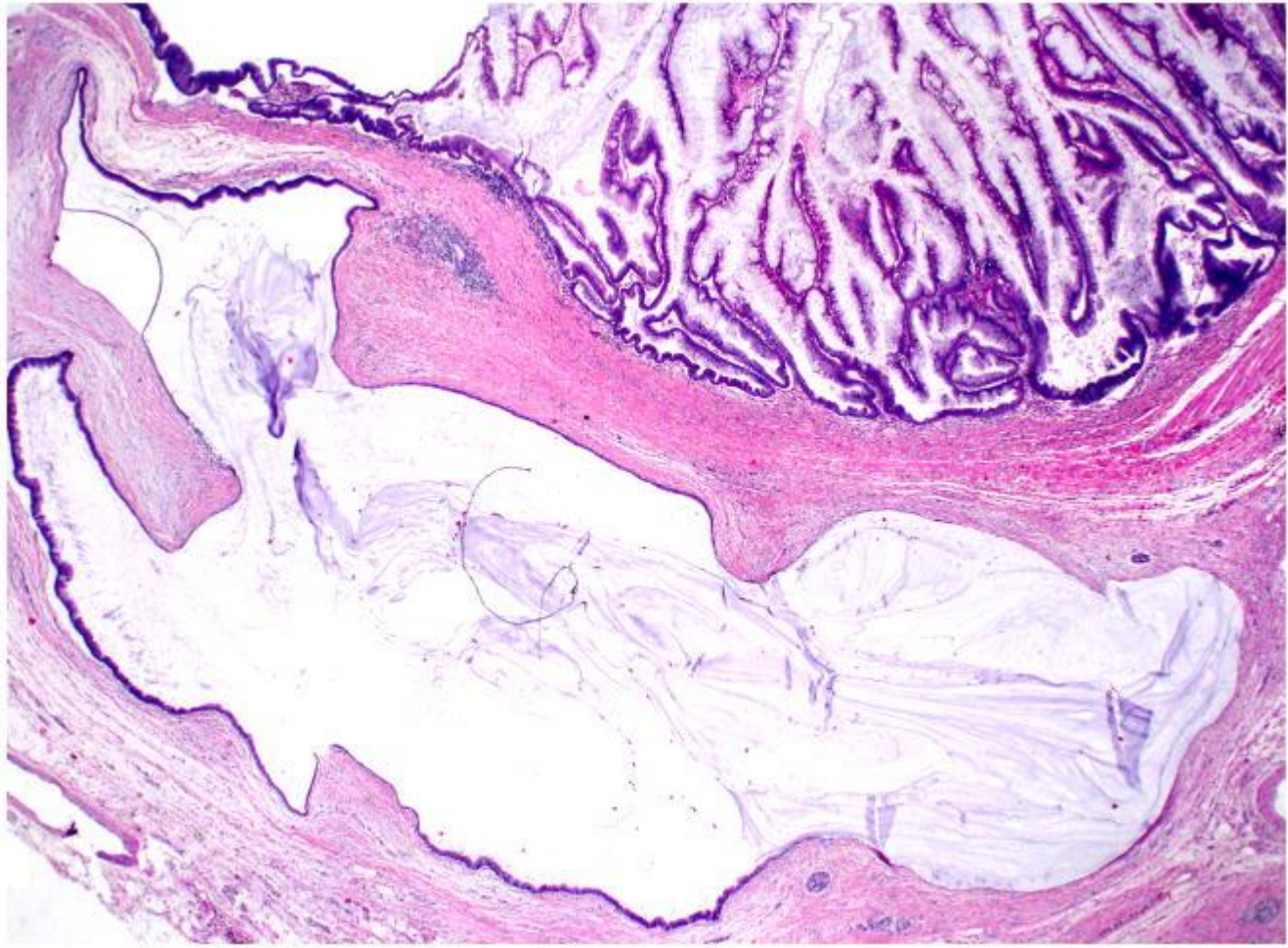


Figura 8

En las IPMN, la ruptura de los conductos puede conducir a la extrusión de mucina en el estroma, lo que puede ser difícil de distinguir del verdadero carcinoma colode invasivo (tinción con hematoxilina y eosina).

Fuente: Adsay y otros (2016)

Estadificación del carcinoma invasivo; definición refinada propuesta de "mínimamente invasivo" como pT1 y T1a, byc

Al igual que con cualquier cáncer invasivo, se requiere clasificar en etapas los carcinomas invasivos que surgen de (o en asociación) con las IPMN. Una proporción significativa de los carcinomas invasivos descubiertos en las IPMN es pequeña y se ha calificado de "mínimamente

invasiva". Sin embargo, este término es impreciso, inespecífico y potencialmente engañoso, ya que se ha utilizado de manera muy variable en la literatura: en algunos estudios, que también incluyen casos "indeterminados" en otros, el término

La forma mínimamente invasiva se reservó para casos con focos invasivos diminutos, mientras que en otros, y para Adsay y otros (2016) el término se definió como un carcinoma que había invadido un poco más allá de la pared del conducto, y aún en otros casos, como cánceres T1, y en otros, para la invasión no se aprecia mucho pero se descubre en el examen microscópico. Por lo tanto, se recomienda que se abandone el término "mínimamente invasivo" y se reemplace por una documentación adecuada del tamaño del carcinoma invasivo y su estadificación adecuada. Se ha propuesto subestadificar estos carcinomas pequeños como pT1a, si  $\leq 0.5$  cm; pT1b, si  $> 0.5$  y  $\leq 1.0$ , y como pT1c, si  $> 1.0$  y  $\leq 2.0$  cm, aunque esta clasificación debe validarse en estudios a gran escala (multiinstitucionales).

En la estadificación de las IPMN con carcinomas más evidentes, se recomienda que se emplee el protocolo de estadificación UICC / AJCC.<sup>114</sup> Desafortunadamente, numerosos estudios han revelado que el protocolo de la etapa T actual carece de correlación pronóstica lineal debido a la irreproducibilidad e inaplicabilidad patológica de parámetros mal definidos como "afectación del tejido blando peripancreático",<sup>123 - 125</sup> o "afectación del conducto biliar común" (en cuanto a qué parte del conducto biliar común debe tomarse en consideración).<sup>126, 127</sup> Por estas razones, se considera que un protocolo que reemplaza estos parámetros con el tamaño del tumor como el parámetro definitorio principal para pT3 (en el sistema actual, pT1 y T2 ya están definidos por tamaño) reemplaza el protocolo actual fallido.<sup>128</sup> Sin embargo, hasta que se adopte formalmente este cambio, se recomienda documentar tanto el tamaño del carcinoma invasivo como el estadio AJCC / UICC actual.<sup>114</sup>

#### Carcinoma invasivo "derivado de" o "concomitante con" IPMN

Hay evidencia emergente de que puede haber algunas diferencias biológicas y pronósticas entre los carcinomas "derivados de" (que surgen en el área de) IPMN versus aquellos que son "concomitantes" (no contiguos a) IPMN. Por lo tanto, se recomienda que se haga todo lo posible para documentar la relación del carcinoma invasivo con la IPMN. Para este propósito, se recomienda tomar secciones para verificar la continuidad (o discontinuidad) del carcinoma

invasivo con el IPMN. Teniendo en cuenta que los tumores y los carcinomas pueden crecer en forma de pesas o con áreas de omisión, el examen del grosor completo del tejido y la garantía de discontinuidad entre la invasión y la IPMN se deben documentar de manera inequívoca antes de poder clasificar un caso como "concomitante" en lugar de surgir principalmente en IPMN. Muchos de los protocolos actuales de recaudación / muestreo utilizados en Occidente pueden no llegar a ser convincentes a este respecto. Por lo tanto, esta distinción puede no ser alcanzable en todos los casos.

#### Evaluación de carcinomas invasivos para parámetros complementarios.

Los carcinomas invasores en casos de IPMN deben evaluarse, además de la estadificación, para los parámetros complementarios que se requieren típicamente en los informes sinópticos del cáncer, como los recomendados por el College of American Pathologists. Estos incluyen grado, invasión perineural, invasión vascular y, opcionalmente, también para brotes. invasión a los órganos vecinos también debe documentarse.

#### N-etapa

Es imperativo que el estado de los ganglios linfáticos se documente correctamente en las IPMN, independientemente de si se detecta o no la invasión. Ha habido casos en los que la identificación de metástasis en los ganglios linfáticos ha conducido a una investigación más cuidadosa de la IPMN y a la detección definitiva del carcinoma invasivo en una IPMN que por lo demás parece no invasiva. Se recomienda que se identifique un mínimo de 12 ganglios linfáticos en una muestra de pancreatoduodenectomía según lo recomendado por el Colegio Americano de Cirujanos, y si esto no se logra, se debe realizar un muestreo adicional en un intento de identificar más ganglios linfáticos, y esto debe aclararse en un comentario. Ciertos enfoques de enrojecimiento, como el método de "peeling de naranja" pueden facilitar una extracción más completa de los ganglios linfáticos.

Para la evaluación y documentación de los ganglios linfáticos, se deben seguir los protocolos de rutina de las pautas JCC / UICC . En consecuencia, una invasión directa a un ganglio linfático es considerado como metástasis en los ganglios linfáticos, aunque el pronóstico <sup>134</sup> se está debatiendo los méritos y científico de este. Para los cánceres de páncreas, el

número de ganglios linfáticos afectados también parece ser un pronóstico significativo y, por esta razón, se ha propuesto subestadificación de los casos con ganglios positivos como N1 y N2.

Del mismo modo, la proporción de ganglios linfáticos también puede tener importancia pronóstica, pero actualmente no es aplicable en la práctica diaria. Por estas razones, se recomienda documentar el número de ganglios linfáticos involucrados, como en cualquier otro informe de patología oncológica.

#### Definición de "IPMN maligno"

En la literatura, el término "maligno" se ha utilizado de manera muy variada, y esto ha llevado a una gran confusión al evaluar el comportamiento y la importancia de las IPMN: en algunos estudios, el término maligno IPMN se usó en referencia al comportamiento clínico con el término "maligno" solía referirse solo a aquellos casos con metástasis y mortalidad. En otros estudios, tanto la displasia de alto grado (carcinoma *in situ*) como los carcinomas invasivos se consideraron como "malignos", mientras que, en otros estudios, solo los casos con un carcinoma invasivo asociado se clasificaron como "malignos".

Teniendo en cuenta que solo los casos invasivos tienen la capacidad de exhibir un verdadero comportamiento maligno (crecimiento incontrolable, destrucción y metástasis), esta última definición se determinó en la reunión de Verona como la más precisa. Sin embargo, para evitar confusiones y de acuerdo con la práctica habitual de patología oncológica en otros órganos, se recomendó que no se use el término "IPMN maligno" y, en su lugar, se proporciona una aclaración sobre si es invasiva y no invasiva. invasor.

#### Calificación de IPMN


El grado de atipia citoarquitectónica (displasia) en IPMN se clasifica como bajo, intermedio y alto.<sup>44</sup> Los criterios para esto se establecen en publicaciones anteriores y ahora se usan ampliamente. En la OMS-2010, se recomendó evitar el término carcinoma *in situ* o carcinoma intramucoso, que se reemplazará por "displasia de alto grado" para todos los cambios neoplásicos confinados en conductos (no invasivos). La razón principal de esto fue evitar el tratamiento excesivo. Sin embargo, debe observarse aquí que, en muchas partes del mundo, la palabra "carcinoma" (*in situ*) todavía se emplea para las formas más avanzadas de displasia de

alto grado. Si se prefiere esto, entonces también es crucial que esto se aclare explícitamente como " carcinoma *no invasivo* ".

En un caso dado, la calificación final de IPMN se basa en el enfoque de calificación más alta, sin importar cuán pequeño sea. En los casos con displasia de alto grado ("carcinoma in situ"), es aconsejable documentar la extensión de esto como focal (<25% del tumor), sustancial (25-75%) o difusa (> 75%) (Sinóptico 2), aunque todavía no se ha establecido la relevancia clínica y conductual de esto.

### Subtipos IPMN

La categoría de IPMN se creó como una entidad paraguas para abarcar todas las neoplasias intraepiteliales tumorales (neoplasias intraductales formadoras de masa) con una arquitectura predominantemente papilar que involucra los conductos grandes del páncreas.<sup>43, 44, 51</sup> Ahora ha quedado claro que los cuatro linajes celulares ( Figura 8 ) que aparecen en los componentes papilares de las IPMN pueden representar diferentes vías carcinogénicas con diferencias significativas en sus asociaciones clínico-patológicas, tasas de progresión del cáncer, inmunofenotipo y características moleculares.



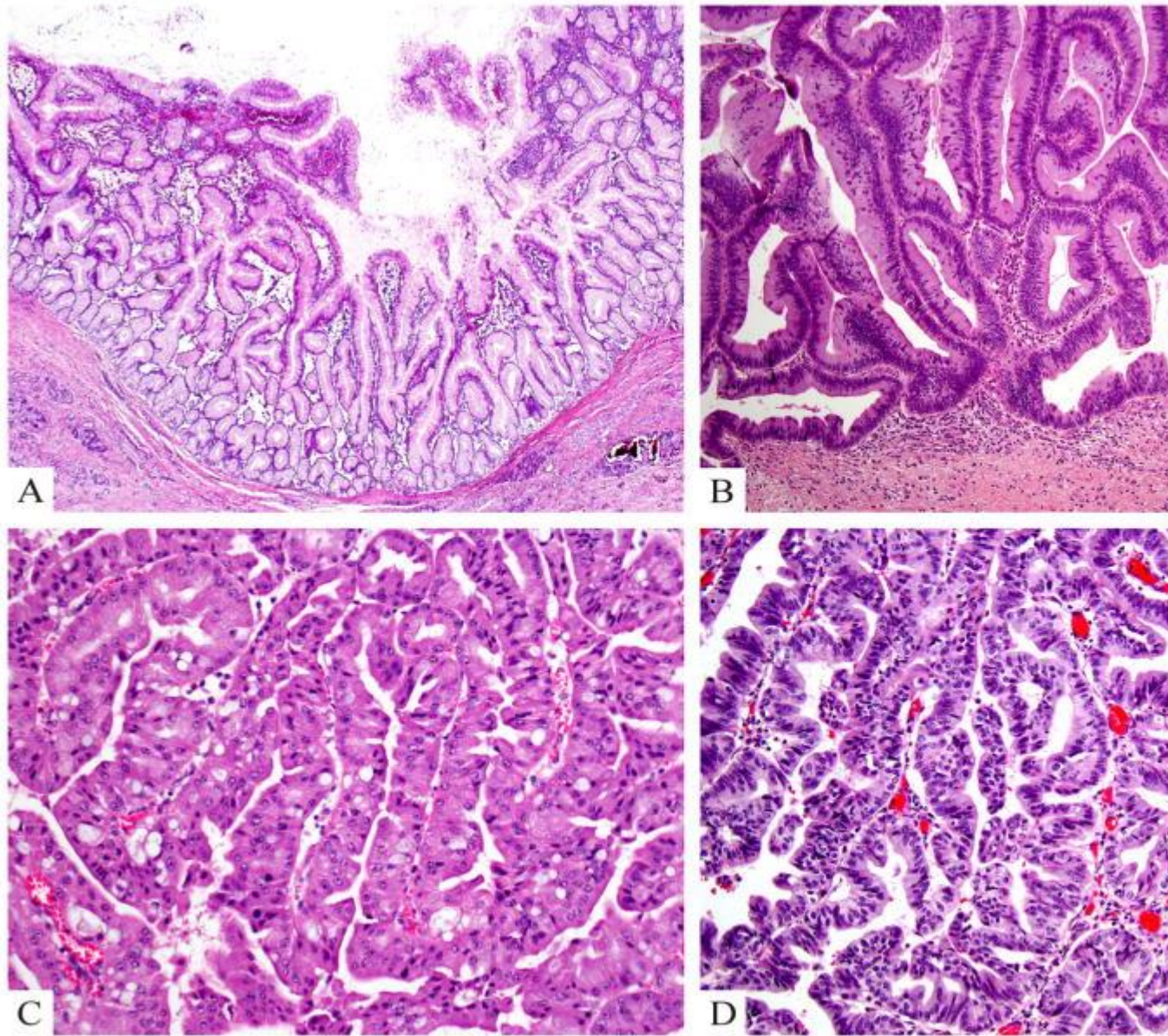


Figura 9

A) El tipo gástrico IPMN muestra papilas relativamente simples y típicamente cortas y con frecuencia tienen elementos glandulares de tipo pilórico en su base en la pared del quiste. El revestimiento epitelial es muy similar al epitelio foveolar gástrico. B) El tipo intestinal IPMN típicamente tiene un patrón de crecimiento vellosos y revela células columnares pseudoestratificadas con un aspecto basófilo y mucina apical. C) La IPMN de

tipo oncocítico revela papilas arborizantes revestidas por 2 a 5 capas de células cuboides con citoplasma oncocítico y nucléolos prominentes y excéntricos, así como también luminarias intraepiteliales. RE)El tipo pancreatobiliar IPMN tiene configuraciones papilares de arborización e interconexión complejas con núcleos fibrovasculares delicados y está compuesto de células cuboidales con núcleos agrandados y poca producción de mucina (tinción de hematoxilina y eosina).

Fuente: Adsay y otros. (2016)

La mayoría de las IPMN de los conductos derivados son de *tipo gástrico* caracterizadas por un revestimiento de papila que es muy similar al epitelio foveolar gástrico. Aunque el carcinoma invasivo se asocia con menos frecuencia con las NIPM gástricas que con los otros tipos de NIPM, una vez que ocurre, generalmente es del tipo tubular / ductal con un comportamiento agresivo similar al de la PDAC ordinaria.<sup>62, 140, 141, 136</sup> Las IPMN de tipo intestinal son similares a los adenomas colónicos, que se distinguen por su arquitectura vellosa y mucina basófila pálida que suele ser difusamente positiva para MUC2, además de la expresión de CDX2 (factor de transcripción de la programación intestinal)<sup>50, 51, 142</sup> Las IPMN de tipo intestinal son típicamente el tipo de conducto principal y son bastante extensas.<sup>50 - 52, 103 - 105, 143</sup> y es más probable que alberguen mutaciones *GNAS* que los otros tipos de IPMN.<sup>144 - 146</sup> El carcinoma invasivo se identifica en un tercio de las IPMN intestinales resecaadas, y estos focos invasivos a menudo resultan ser de tipo coloide<sup>51, 65</sup> con curso clínico sorprendentemente prolongado.

Las IPMN oncocíticas, anteriormente llamadas neoplasias papilares oncocíticas intraductales, y argumetan Adsay y otros (2016) que típicamente se presentan como lesiones quísticas multiloculares grandes y complejas en lugar de la presentación típica de IPMN de dilatación ductal o extrusión de mucina desde la ampolla. Son característicamente complejos, arborizantes, con proliferación florida de células oncocíticas con un aspecto relativamente monótono. A pesar de su gran tamaño y su sorprendente complejidad, el carcinoma invasivo es sorprendentemente raro en estos tumores y, si se ve, suele ser muy limitado en cantidad. El pronóstico parece ser relativamente indolente también. Mutaciones en *KRAS* y *GNAS*, que de lo contrario son comunes en las IPMN, rara vez se detectan en este grupo.

Las IPMN que tienen células cuboidales con citología de alto grado y que no tienen las características de los tipos intestinal o oncocítico se designan como pancreatobiliar. Muchos de estos pueden representar una transformación de alto grado de tipo gástrico IPMN; sin embargo, algunos tienen un patrón y una morfología distintivos que apoyan un linaje separado. También es este patrón el que tiene características superpuestas con neoplasmas tubulopapilares intraductales.

Se reconoce que en algunos casos (alrededor del 15%), hay características que se superponen, y no es posible colocar un tumor determinado en ninguna categoría, en cuyo caso debe emplearse el término "mixto", con una nota explicativa en la sección de comentarios.

Definición y delineación de IPMN a partir de sus imitadores.

Panins grandes

Las IPMN de tipo gástrico comentan Adsay y otros (2016) tienen importantes superposiciones morfológicas y moleculares con las PanIN. Las IPMN se definen por su naturaleza "tumoral" (formación de nódulos quísticos y papilares clínicamente visibles o muy visibles que suelen ser > 1 cm) y las PanIN son formas de displasia incidental / microscópica (<0,5 cm) (neoplasia intraepitelial), pero por lo demás tienen Características patológicas muy similares. Con el fin de proporcionar un valor numérico a esta distinción, generalmente se emplea el criterio de tamaño de 1 cm. Para los quistes <1 cm y > 0,5 cm que están recubiertos por epitelio mucinoso de tipo gástrico, el término "IPMN incipiente" se ha propuesto como una opción. Para las lesiones intestinales y oncocíticas, este diferencial es en gran medida un punto discutible, ya que se clasifican como IPMN independientemente del tamaño, aunque es extremadamente poco frecuente que se descubran cuando midan menos de 1 cm. <sup>156</sup>

Quiste mucinoso simple (lesión quística del conducto mucinoso)

Los quistes de más de 1 cm revestidos por epitelio mucinoso pero sin una configuración papilar manifiesta y sin ningún estroma de tipo ovárico crean una entidad difícil de clasificar. Anteriormente, el término "quiste mucinoso no neoplásico" se había recomendado para tales lesiones, pero considerando que el cambio mucinoso en el páncreas ahora se equipara con la forma más temprana de transformación neoplásica, este nombre ya no es práctico. Dado que

muchas de estas lesiones no muestran signos de obstrucción ni de ninguna otra anomalía en el páncreas restante, tampoco pueden considerarse exactamente como quistes de retención. Cabe destacar que estas parecen ser versiones megaquísticas de PanIN-1A (también conocida como "lesión del conducto mucinoso"), y por lo tanto, también se propuso el término lesión *quística del conducto mucinoso*. Sin embargo, la verdadera identidad y el mejor nombre para asignar a esta entidad requieren más análisis y discusiones.

Quistes de retención; Dilatación secundaria de los conductos.

Las lesiones en masa (y otros factores obstructivos) pueden conducir a una dilatación secundaria de los conductos pancreáticos, y cuando estos adquieren epitelio mucinoso, pueden ser difíciles de distinguir de los IPMN. La falta de elementos papilares floridos y su luminaria redonda abierta, así como la ubicación de las lesiones (comúnmente ubicadas en la periferia de la masa principal) pueden ayudar a diferenciarlas de las IPMN verdaderas. Además, a menudo tienen al menos un revestimiento cuboidal focal.

Ocasionalmente, el conducto pancreático principal también se dilata significativamente debido a un proceso obstructivo. Recientemente, los tumores neuroendocrinos diminutos que surgen en la pared del conducto (especialmente de las células de serotonina) llegan a la atención clínica, y pueden simular clínicamente una NIPM, ya que pueden causar una dilatación ductal significativa.<sup>162,163</sup> Más importante aún, en raras ocasiones, los PDAC pequeños pueden conducir a una dilatación marcada del conducto principal, que de nuevo imita clínicamente una IPMN. En estos casos se puede pasar por alto el carcinoma obstructivo.

Neoplasias tumorales intraepiteliales similares

Las neoplasias tubulares / tubulopapilares intraductales son afines muy parecidos a las IPMN, en la medida en que algunos han propuesto considerarlas como una variante de la IPMN. Sin embargo, dado que carecen de dos de los rasgos característicos de IPMN que incluso se han incorporado al nombre, es decir, producción significativa de mucina y formación de papila, esta entidad se mantuvo separada de IPMN en la clasificación de la OMS-2010. Las ITPN están compuestas de células no mucosas (o mínimamente mucosas), que crecen en un patrón predominantemente tubular con una formación mínima de papila.

En las áreas que carecen del estroma de tipo ovárico, las neoplasias quísticas mucinosas pueden parecer idénticas a las IPMN del conducto ramificado, y en las áreas con formación de papila florida, son muy similares a las IPMN de tipo pancreatobiliar.

Los adenomas y las neoplasias papilares no invasivas que crecen dentro de la ampolla, que recientemente se ha propuesto unificar bajo el encabezado de las neoplasias tubulares papilares intraampulares también pueden ser prácticamente idénticas a las IPMN, especialmente cuando muestran extensión a los conductos pancreáticos.

Si se toman fuera de contexto, afirman Adsay y otros (2016) las neoplasias papilares intraductales de los conductos biliares también son indistinguibles de las IPMN. La formación de grietas, la disección y el muestreo apropiados (con los identificadores de la ubicación de cada tejido muestreado) son cruciales para hacer la distinción entre estas entidades, ya que sin el conocimiento de la ubicación específica de una lesión dada, estas pueden ser indistinguibles a nivel microscópico. Para los protocolos de recaudación apropiados, se remite a los lectores a otros textos detallados. También debe señalarse que algunos IPMN de tipo intestinal muestran una extensión fistulosa en los órganos adyacentes- que pueden simular tumores de esos sitios secundarios.

#### Adenocarcinomas invasivos de tipo conducto grande.

Algunos adenocarcinomas ductales invasivos del páncreas están compuestos por conductos dilatados más grandes, en lugar del patrón tubular pequeño más clásico. Estos a menudo están bien diferenciados y pueden exhibir elementos papilares abortivos, de manera que, cuando se toman de forma aislada, muchas de las unidades glandulares invasoras pueden imitar a las IPMN. Estos adenocarcinomas invasivos de tipo conducto grande se pueden distinguir de los IPMN por los contornos altamente irregulares de los conductos, el revestimiento epitelial relativamente plano, la formación de lúmenes abiertos y redondos (en lugar de los conductos comprimidos con contornos ondulados) y la presencia de restos granulares necróticos en su luz. La distinción de estos carcinomas invasivos de las IPMN no invasivas es de suma importancia ya que tanto el resultado como la patogénesis son muy diferentes. De hecho, algunas de las IPMN rápidamente progresivas en algunos estudios pueden pertenecer a esta categoría.

Quistes congénitos, de duplicación, entéricos y de paredes paraduodenales.

Una variedad de quistes cerca de la pared duodenal puede imitar clínicamente a las IPMN. De hecho, cuando estos quistes desarrollan cambios carcinomatosos papilares, pueden ser indistinguibles de las IPMN.<sup>172</sup> Algunos quistes congénitos, de duplicación o entéricos se pueden reconocer por la presencia de una pared muscular, lo que puede ser muy útil. Algunos también tienen epitelio ciliado focal que no se ve en las IPMN.

Los quistes de la pared duodenal para-ampular que se producen como consecuencia de una pancreatitis paraduodenal (surco) a menudo tienen un revestimiento mucinoso parcial, debido a una lesión preferencial del tejido pancreático que ocurre en la pared del duodeno ("distrofia quística del páncreas heterotópico"). Se pueden confundir con IPMN.

Tumores coincidentes y páncreas no comprometidos.

En un paciente con IPMN, es importante analizar las partes no involucradas de la muestra. Como se discutió anteriormente, ahora está bien establecido que las IPMN pueden ser multifocales, y, además, los carcinomas invasivos concomitantes pueden encontrarse lejos de las lesiones principales de IPMN. Aunque los tumores neuroendocrinos pueden ocurrir sincrónicamente con las IPMN, es mucho más común ver una agregación no neoplásica de los islotes de Langerhans secundaria a una obstrucción del conducto de larga duración.<sup>182 - 185</sup> Este último hallazgo no debe diagnosticarse en exceso como "hiperplasia de células de los islotes" o como neoplasia neuroendocrina.

También debe tenerse en cuenta que muchos pacientes con IPMN tienen tumores metacrónicos y sincrónicos en otros órganos, especialmente el colon, y algunos de ellos pueden estar presentes en la muestra de resección, incluida la ampolla y el duodeno.

También es recomendable documentar los cambios en las porciones no afectadas del páncreas. La pancreatitis peritumoral es muy frecuente en las IPMN del conducto principal como consecuencia de los efectos locales del tumor, y sería preferible no designarlas como pancreatitis crónica, ya que la pancreatitis crónica es una entidad específica de la enfermedad, definida por una constelación de hallazgos a nivel clínico. Puede ser más apropiado ser descriptivo sobre estos cambios crónicos como atrofia, inflamación y otros.

El muestreo de páncreas aparentemente no involucrado también puede revelar lesiones obstructivas sutiles e irreparables que conducen a la "pseudo-IPMN".

Evaluación de la sección congelada.

Después de las discusiones en las reuniones de consenso de Verona y de Johns Hopkins, donde inicialmente se expresaron opiniones diferentes, finalmente se acordó ampliamente que si se realiza la sección de congelación rutinaria del tumor primario, debe hacerse con el entendimiento de que: 1) Ambas La displasia de grado y el carcinoma invasivo, que son los objetivos principales de una sección congelada, son generalmente focales y, a menudo, no se distinguen de las porciones de menor grado de la lesión y, por lo tanto, no se pueden excluir con confianza en una configuración de sección congelada.

Por lo tanto, la discrepancia se observa comúnmente entre la sección congelada y los resultados permanentes. 2) Incluso si existe tal foco de displasia y / o carcinoma de alto grado, la interpretación histológica puede ser difícil debido al artefacto de congelación, el pequeño tamaño del foco, y teniendo en cuenta que la evaluación patológica de IPMN ya es difícil incluso en las secciones correctamente obtenidas. 3) La congelación del tejido a menudo conduce a alteraciones adversas en la muestra que pueden obstaculizar la evaluación diagnóstica final en secciones permanentes, especialmente considerando que el motivo de preocupación es a menudo pequeño y puede desaparecer también.

La evaluación de los *márgenes* por secciones congeladas puede estar indicada en algunos casos de IPMN. Al evaluar los márgenes, se deberían tener en cuenta las preocupaciones descritas anteriormente. La tarea principal del patólogo es determinar si existe una displasia de alto grado o un carcinoma invasivo, ya que se cree que requieren un manejo más agresivo teniendo en cuenta el rendimiento de una cirugía más extensa, incluida la pancreatectomía total. Los datos actuales indican que la presencia de displasia de bajo grado o displasia de grado intermedio no requiere ninguna otra cirugía, siempre que no haya otras lesiones clínicamente (e intraoperatoriamente) en el páncreas restante.

Este enfoque también se refiere a PanIN incidental de baja ley en un margen. Para Adsay y otros (2016) los PanIN de bajo grado a menudo se encuentran en la población general, y, por lo tanto, también en pancreata con IPMN (ver más abajo para los imitadores de IPMN). Si bien las IPMN de tipo intestinal y oncocítico son fáciles de distinguir de las PanIN, las IPMN gástricas (y los componentes quísticos de las IPMN intestinales y oncocíticas que también suelen tener epitelio de tipo gástrico) son virtualmente indistinguibles de las PanIN. Por esta razón, se recomienda que se informe sobre el epitelio gástrico de bajo grado en los márgenes pancreáticos como “No se identifica displasia de alto grado ni carcinoma invasivo; hay epitelio mucinoso de bajo grado (PanIN de bajo grado o IPMN de bajo grado)”. Los datos actuales indican que estos hallazgos por sí mismos no justifican una resección adicional.

Un hallazgo difícil en las secciones congeladas para los márgenes son los conductos inflamados con epitelio desnudo, especialmente si el conducto está dilatado.<sup>207</sup> Se deben informar como "epitelio desnudo, no se puede evaluar el proceso neoplásico". En este punto, el juicio clínico y operatorio debe ser usado para determinar el curso de acción, y la presencia o ausencia de una lesión en el páncreas restante puede ser un factor importante en esta decisión.

En cuanto a las indicaciones para obtener secciones congeladas, también debe tenerse en cuenta que una sección congelada solo debe realizarse si puede cambiar el curso de la operación. Dado que tales criterios son en su mayoría quirúrgicos, las situaciones específicas que podrían ser necesarias están más allá del alcance de este manuscrito y requieren más discusiones.

#### Reporte de muestras de citología.

Existen diferentes opiniones sobre el valor de la aspiración con aguja fina en el diagnóstico de IPMN. En Japón, esto se evita principalmente debido a las preocupaciones sobre la siembra de tumores o las complicaciones relacionadas con la biopsia. Sin embargo, en los Estados Unidos, la biopsia de FNA guiada por ultrasonido se utiliza ampliamente en el algoritmo de diagnóstico de las NIPM, especialmente aquellas con riesgo indeterminado, como las NIPM con conductos derivados con características indeterminadas, o en pacientes en los que la cirugía está contraindicada.

Los hallazgos de la biopsia FNA deben interpretarse en el contexto de los hallazgos clínicos y con una comunicación estrecha entre el radiólogo, el equipo de manejo clínico y los citopatólogos. De lo contrario, los resultados pueden ser engañosos. Por ejemplo, en el contexto correcto, la presencia de mucina espesa sola puede ser suficiente para un diagnóstico de IPMN, incluso si es relativamente acelular.

La mayoría de las IPMN de conductos derivados (y el componente quístico de otros tipos de IPMN) tienen un revestimiento que no se distingue del epitelio gástrico normal. Por esta razón, argumentan Adsay y otros (2016) la presencia de epitelio de tipo gástrico en frotis de FNA de un quiste pancreático debe informarse como "epitelio de tipo gástrico, no puede excluir la contaminación gástrica o una IPMN de tipo gástrico de bajo grado". Si están presentes, las células parietales pueden ayudar a hacer esta distinción.

Es importante tener en cuenta que los focos de carcinoma invasivo suelen ser pequeños y que es menos probable que las células "invasivas / carcinomatosas" se viertan en el líquido del quiste. Por lo tanto, a menos que las áreas sólidas que contienen estos elementos invasivos se muestreen por separado, la FNA puede pasar fácilmente por alto el carcinoma invasivo. Lo mismo es cierto para la displasia microfocal de alto grado. A la inversa, el epitelio ductal reactivo puede confundirse con cambios "carcinomatosos". Por estas razones, los resultados de la FNA deben evaluarse teniendo en cuenta los hallazgos clínicos.

También a menudo es imposible distinguir las células de la displasia de alto grado de las del carcinoma invasivo. Para estos casos, se recomienda el diagnóstico de "atipia de alto grado, posible cambio carcinomatoso en IPMN", con el entendimiento de que "atipia de alto grado" es un término que abarca todas las características de "displasia de alto grado" como así como el "carcinoma invasivo", que son citológicamente inseparables y ambos requieren resección. Aquí se debe tener en cuenta que el diagnóstico de "atipia de grado alto" se debe usar solo en muestras de FNA (no en biopsias quirúrgicas o resecciones), e incluso en las FNA, debe ir seguido de un comentario que indique que este diagnóstico indica una sospecha de transformación carcinomatosa, pero no puede distinguir entre carcinoma in situ o invasivo,

Las IPMN y las MCN no se pueden distinguir en la FNA. Esto se debe a que el estroma ovárico subepitelial de la MCN a menudo no se muestra ni se puede reconocer en frotis o bloque

celular. Por esta razón, en las muestras citológicas que se considera que representan una de estas entidades, se prefiere el término "quiste neoplásico mucinoso", con un comentario calificativo que indica que estos dos diferenciales están incluidos. Una vez que se determina que un quiste es un quiste mucinoso neoplásico, es importante determinar la presencia y el grado de atipia citológica (atipia de grado alto versus bajo) en todos los casos, para estratificar mejor el riesgo de invasión.

Los principios de notificación para IPMN también son aplicables a otras neoplasias tumorales intraepiteliales del tracto pancreatobiliar

Si bien la tarea principal del grupo, afirman Adsay y otros (2016), de consenso fue centrarse en las NIPM pancreáticas, otras elaboraciones detalladas han llevado a la conclusión de que las NIPM son, de hecho, el prototipo de un grupo de lesiones estrechamente relacionadas que ocurren en varios aspectos del tracto pancreatobiliar, y que muchas de ellas los principios discutidos anteriormente con respecto a la evaluación patológica y el informe serían muy aplicables a estos tumores similares, es decir, neoplasias tumorales intraepiteliales, también.

Neoplasias quísticas mucinosas (del páncreas y del tracto hepatobiliar), neoplasmas tubular / tubulopapilares intraductales (del páncreas y las vías biliares), "adenomas" y "neoplasias papilares" que crecen dentro de la ampolla (recientemente propuesto para ser recolectado bajo el título de neoplasia tubular papilar intraampular con un abordaje similar a NIPM),<sup>166</sup> y "adenomas" y "neoplasias papilares intrísticas" de la vesícula biliar (se propuso recientemente que se unificara bajo un título de neoplasias tubulares papilar intracolecísticas),<sup>219</sup> todos comparten varias características importantes con IPMN. Todas son neoplasias no invasivas de formación masiva que muestran un espectro de transformación neoplásica; es decir, la secuencia adenoma-carcinoma, con un espectro intramucoso / intraepitelial que va desde epitelio gástrico hiperplásico hasta cambios intramucosos intramucosos / carcinomatosos intraepiteliales que solían denominarse "adenocarcinomas papilares". Todas estas entidades también exhiben linajes celulares identificados en IPMN (gástricas, intestinales, pancreatobiliares, oncócicas y mixtas). El esquema de clasificación y la terminología para estos tumores se adoptan principalmente de aquellos utilizados para las IPMN. Además, pueden asociarse con carcinoma invasivo de varios tipos. Todos los principios de notificación discutidos

anteriormente (clasificación, estadificación, tipificación, notificación separada de carcinoma invasivo,

### Conclusión

La evaluación adecuada y consistente y la documentación completa de las características patológicas de las neoplasias y la aplicación de una terminología uniforme son cruciales tanto para el manejo de los pacientes con IPMN como para el descubrimiento de muchos enigmas de esta entidad, así como otras neoplasias tumorales intraepiteliales similares del tracto pancreatobiliar.

## 4.2 Otros estudios

### 4.2.1 Estudio 9

Kang, Lee, Jang, Han y Kim (2013) informan que el valor pronóstico de los subtipos histológicos de neoplasia mucinosa papilar intraductal pancreática (IPMN) tiene resultados contradictorios. Los autores investigaron las características clínico-patológicas y la importancia pronóstica de los subtipos histológicos de IPMN con diversos grados de displasia .

Como método incluyen doscientos trece pacientes con IPMN pancreática tratada quirúrgicamente en un solo centro de referencia de atención terciaria. Las diapositivas patológicas fueron revisadas a fondo por un patólogo especializado.

Como resultado, de los 213 pacientes, se identificaron 38 displasia de bajo grado, 97 de grado intermedio y 18 de alto grado y 59 IPMN con un carcinoma invasivo asociado (IPMN invasivo). Los subtipos histológicos consistieron en 135 gástricos (63,4%), 38 intestinales (17,8%), 38 pancreatobiliar (17,8%) y 2 tipos oncocíticos (0,9%). Los subtipos histológicos se asociaron con el tipo radiológico (  $P < 0,001$ ), el grado de displasia (  $P < 0,001$ ) y el estadio T (  $P < 0,001$ ). Las proporciones de IPMN invasivas fueron 14.1%, 42.1%, 57.9% y 100% de los tipos gástrico, intestinal, pancreatobiliar y oncocítico, respectivamente.

La supervivencia específica de la enfermedad no se vio afectada por el subtipo histológico en pacientes en general (  $p = 0,881$ ). Para IPMN invasivas, los subtipos histológicos tuvieron una

importancia marginal en la supervivencia ( $P = 0.050$ ), que perdió significación estadística después del análisis multivariado ( $P = 0.341$ ).

Se concluye aunque los subtipos histológicos están asociados con el grado de displasia, los subtipos histológicos tienen un valor pronóstico limitado para las NIPM pancreáticas.

#### 4.2.2 Estudio 10

Kim, Park., Pyo, Yoon. Byun, Lee, Krajewski y Ramaiya (2014) determinan sistemáticamente los hallazgos de la imagen para distinguir neoplasmas mucinosas papilares intraductales malignas y benignas de conducto ramificado (BD-IPMN), incluido el tipo mixto, y su valor diagnóstico mediante el metanálisis de estudios publicados.

Manifiestan que gestión de BD-IPMN, incluido el tipo mixto, se basa en gran medida en los hallazgos de imágenes. El conocimiento actual sobre los hallazgos de las imágenes para distinguir los BD-IPMN malignos y benignos tiene evidencia débil y es principalmente de estudios retrospectivos individuales dispersos.

Realizan una búsqueda exhaustiva de la literatura en las bases de datos Ovid-MEDLINE y EMBASE para identificar estudios en los que los hallazgos de la tomografía computarizada, la resonancia magnética y la ecografía endoscópica de BD-IPMN con o sin dilatación del conducto pancreático principal (MPD) se correlacionaron con la cirugía / patología recomendaciones. La revisión de 1128 candidatos a artículos, incluida la revisión de texto completo de 102 artículos, identificó 23 artículos elegibles con un total de 1373 pacientes para el metanálisis. Los datos dicotómicos con respecto a la distinción entre BD-IPMN malignas y benignas se combinaron utilizando un modelo de efectos aleatorios para obtener los odds ratios (DOR) y sus intervalos de confianza (IC) del 95% de varios hallazgos de imágenes individuales para diagnosticar BD-IPMN maligno.

La presencia de nódulos murales reveló el DOR agrupado más alto (IC 95%) de 6.0 (4.1–8.8) seguido de dilatación MPD [3.4 (2.3–5.2)], tabique / pared gruesa [no ajustada, 3.3 (1.5–6.9); publicación ajustada al sesgo, 2.3 (0.9–5.5)], y tamaño de quiste mayor a 3 cm [2.3 (1.5–3.5)]. La multilocularidad y la multiplicidad de las lesiones quísticas no revelaron una asociación estadísticamente significativa con la malignidad.

Conclusiones que la presencia de nódulos murales debe considerarse altamente sospechosa de malignidad que justifique una escisión quirúrgica, mientras que el tamaño del quiste mayor de 3 cm, la dilatación MPD (5-9 mm) o el tabique / pared gruesa se pueden manejar mejor mediante observación cuidadosa y / o más evaluación.

#### **4.2.3 Estudio 11**

Del Chiaro y otros (2013), recogen una declaración de consenso de expertos europeos, donde indican que las lesiones quísticas del páncreas son cada vez más reconocidas. Mientras que algunas lesiones muestran un comportamiento benigno (neoplasia quística serosa), otras tienen un potencial maligno inequívoco (neoplasia quística mucinosa, neoplasia mucinosa papilar intraductal de la rama y del conducto principal y neoplasia pseudo-papilar sólida). Los expertos pancreatólogos europeos brindan recomendaciones actualizadas: la tomografía computarizada de diagnóstico y / o la resonancia magnética están indicadas en todos los pacientes con lesión quística del páncreas. Ultrasonido endoscópico con el análisis de líquido quístico puede usarse, pero no hay evidencia que sugiera esto como un método de diagnóstico de rutina.

El papel de la pancreatoscopia queda por establecer. Para Del Chiaro y otros, se debe considerar la resección en todas las lesiones sintomáticas, en la neoplasia quística mucinosa, neoplasia mucinosa papilar intraductal del conducto principal y neoplasia pseudo-papilar sólida, así como en neoplasia mucinosa papilar intraductal del conducto ramificado, con dilatación del conducto pancreático principal > 6 mm y posiblemente si aumenta rápidamente de tamaño. Se debe realizar una resección parcial oncológica en la neoplasia mucinosa papilar intraductal del conducto principal y en lesiones con sospecha de malignidad, de lo contrario se pueden considerar procedimientos de preservación de órganos. Se sugiere la sección congelada del margen de transección en neoplasia mucinosa papilar intraductal. Se recomienda un seguimiento después de la resección para la neoplasia mucinosa papilar intraductal, la neoplasia pseudo-papilar sólida y el cáncer invasivo.

#### **4.2.4 Estudio 12**

Tanaka y otros (2017) revisan el consenso internacional sobre las directrices de Fukuoka. Indican que el manejo de la neoplasia mucinosa papilar intraductal (IPMN) continúa

evolucionando. En particular, las indicaciones para la resección del conducto ramal IPMN han cambiado de una resección temprana a una observación más deliberada, tal como lo proponen las directrices de consenso internacional de 2006 y 2012.

Reseñan que otra guía propuesta por la Asociación Americana de Gastroenterología en 2015 restringió las indicaciones de cirugía de forma más estricta y recomendada. médicos para detener la vigilancia si no se han producido cambios significativos en un quiste pancreático después de cinco años de vigilancia, o si un paciente se sometió a una resección y se encontró un IPMN no maligno. Si es seguro hacerlo o no, así como el método y el intervalo de vigilancia, ha generado un debate sustancial.

Basado en un simposio de consenso celebrado durante la reunión de la Asociación Internacional de Pancreatología en Sendai, Japón, en 2016, el grupo de trabajo ha revisado las directrices sobre la predicción del carcinoma invasivo y displasia de alto grado, vigilancia y seguimiento postoperatorio de IPMN. Tanaka y otros (2017) dicen que como el grupo de trabajo no reconoció la necesidad de revisiones importantes de las pautas, solo se hicieron revisiones menores y agregaron los artículos más recientes cuando fue apropiado. Las directrices actuales incluyen información actualizada y recomendaciones basadas en nuestra comprensión actual, y destacan los problemas que siguen siendo controvertidos o donde se requieren más investigaciones.

#### **4.2.5 Estudio 13**

Distler y otros (2013) investigan diferentes subtipos de neoplasias mucinosas papilares intraductales (NIPM) del páncreas y su valor pronóstico. Estiman que los NIPM tienen un mejor pronóstico que los adenocarcinomas ductales pancreáticos (PDAC). Además de los diferentes tipos de crecimiento (es decir, conductos principales frente a tipos de conductos ramificados), los subtipos histológicos de IPMN (es decir, intestinal, pancreatobiliar, gástrico y oncocítico) son relevantes para el pronóstico. Estos subtipos se pueden caracterizar por diferentes patrones de expresión de mucina (MUC). En este estudio, se analizan las IPMN de 2 centros de referencia de

cáncer pancreático mediante la correlación de la expresión de MUC, el subtipo histológico y el resultado clínico.

Se reevalúan todas las resecciones debidas a un tumor pancreático durante un período de 15 años. Se identificaron los casos con IPMN y los subtipos se distinguieron mediante análisis histopatológico, incluido el análisis inmunohistoquímico de la expresión de MUC (es decir, MUC1, MUC2 y MUC5AC). Además, se determinaron las características clínicas y el resultado del paciente.

Como resultados se identificaron un total de 103 IPMNs. Sobre la base del perfil MUC, los subtipos histopatológicos se clasificaron en las siguientes categorías: tipo intestinal [ n = 45 (44%)], tipo pancreatobiliar [ n = 41 (40%)], tipo gástrico [ n = 13 (12% )], y tipo oncocítico [ n = 4 (4%)]. Se realizaron los siguientes tipos de resecciones: resecciones de la cabeza del páncreas [ n = 77 (75%)], resecciones de la cola [ n = 16 (15%)], pancreatectomías totales [ n = 5 (5%)] y resecciones del segmento [ n= 5 (5%)]. La supervivencia a 5 años de los pacientes con IPMN intestinal fue significativamente mejor que la de los IPMN pancreatobiliares (86.6% vs. 35.6%;  $P < 0.001$ ). El subtipo pancreatobiliar se asoció fuertemente con malignidad [odds ratio (OR): 6.76], recurrencia (  $P < 0.001$ ) y supervivencia a largo plazo comparable a la de los pacientes con PDAC.

Se concluye que la evaluación de los subtipos IPMN apoya la predicción postoperatoria del pronóstico del paciente. Por lo tanto, la diferenciación de subtipos podría llevar a mejoras en el manejo clínico. Posiblemente sea posible identificar subgrupos con la necesidad de terapia adyuvante

#### **4.2.6 Estudio 14**

Supriya, Saha, Zhua, Fuchsb y Brooks (2016), comentan los desafíos en el diagnóstico y la clasificación del colangiocarcinoma que han dificultado la cuantificación de la verdadera incidencia de esta neoplasia maligna altamente agresiva.

Analizamos los datos de vigilancia, epidemiología y resultados finales de colangiocarcinoma en los EE. UU. durante cuatro décadas para evaluar las tendencias a largo plazo en la incidencia estandarizada por edad del colangiocarcinoma intrahepático y extrahepático entre 1973 y 2012, corrigiendo los errores de codificación sistemáticos. Debido a que el colangiocarcinoma intrahepático (ICC) con frecuencia se puede diagnosticar erróneamente como un cáncer de origen primario desconocido (CUP), también analizan las tendencias en la incidencia de CUP.

Encuentran que entre 1973 y 2012, la incidencia de ICC reportada en los Estados Unidos aumentó de 0.44 a 1.18 casos por 100,000, lo que representa un cambio porcentual anual (APC) de 2.30%; esta tendencia se ha acelerado durante la última década a un APC de 4.36%. La incidencia de colangiocarcinoma extrahepático aumentó moderadamente de 0.95 a 1.02 por 100,000 durante el período de 40 años (APC, 0.14%). La incidencia de CUP con características histológicas potencialmente compatibles con colangiocarcinoma disminuyó en un 51% entre 1973 y 2012 (APC, -1.87%), mientras que la incidencia de CUP con características histológicas escamosas o no epiteliales aumentó moderadamente (APC, 0.42%).

Concluyen que la incidencia reconocida de ICC en los EE. UU. sigue aumentando, mientras que la incidencia de ECC es estable. La incidencia de CUP ha disminuido dramáticamente durante el mismo período de tiempo.

#### Implicaciones para la Practica:

Las diferencias clínicas entre el colangiocarcinoma (particularmente el colangiocarcinoma intrahepático [ICC]) y el cáncer de origen primario desconocido (CUP) pueden ser difíciles. Descubrimientos recientes han identificado anomalías genómicas recurrentes y potencialmente dirigibles en ICC, destacando la importancia de mejorar el diagnóstico. Este estudio demuestra que la incidencia de ICC está aumentando en los EE. UU., Mientras que la incidencia de colangiocarcinoma extrahepático es estable. Al mismo tiempo, la incidencia de CUP ha disminuido drásticamente, lo que sugiere que una mejor distinción entre ICC y CUP puede ser un factor importante para el aumento de la incidencia reconocida de ICC. La creciente incidencia de ICC justifica un estudio más a fondo de los enfoques de prevención y tratamiento.

#### 4.2.6 Estudio 15

Michalopoulos (2014) manifiestan que los tumores neuroendocrinos de los conductos biliares extrahepáticos (EBNET) son muy raros. Por eso la revisión es aclarar las características de las EBNET, su tratamiento y pronóstico. Se realizó una revisión sistemática exhaustiva de la literatura desde 1959 hasta la fecha. Se recogieron cien artículos, describiendo 150 casos. Cada artículo fue cuidadosamente analizado y se creó una base de datos. Los síntomas más frecuentes fueron ictericia (60,3%) y prurito (19,2%). La colelitiasis coexistió en 15 casos (19,2%).

Los síntomas relacionados con los péptidos hormonales y vasoactivos se presentaron en solo 7 casos (9%). Se encontró que los sitios más frecuentes eran el conducto hepático común y el conducto biliar común proximal (19,2%). El tratamiento quirúrgico se consideró el tratamiento principal para las EBNET, mientras que la extirpación del árbol biliar extrahepático (62,82%) con linfadenectomía de la vena porta (43,6%) fue el procedimiento más popular. Las EBNET son extremadamente raras. Su rareza hace que su caracterización sea particularmente difícil. Hasta la fecha, el diagnóstico final se realiza después de la cirugía por hallazgos de patología e inmunohistoquímica. El presente análisis de los casos publicados existentes aclara muchos aspectos de estos tumores, proporcionando una completa documentación clínico-patológica.



## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES

De acuerdo con el objetivo general se concluye que los artículos y estudios realizados en los últimos 5 años muestra una tendencia a que las neoplasias de páncreas y vía biliar extra hepática frecuentemente se presentan en grupos etarios de 35 a 50 años, donde la epigenética muestra que es más posible que se den este tipo de neoplasias se desarrollen.

Describiendo publicaciones de los últimos 5 años a nivel mundial sobre las neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática, se observa que las neoplasias de páncreas los diferentes tipos histológicos tiene una incidencia más alta que las neoplasias de vía biliar extrahepática, por las cuales los estudios genéticos se han centrado más en las neoplasias de páncreas.

Revisando las tendencias de los estudios actuales se observa en los artículos, libros y publicaciones médicas revisadas, los científicos se centran en la parte genética y epigenética para explicar y entender e porque ciertas neoplasias son más frecuentes y el grupo etario con mayor riesgo mostrando así la importancia de los genes y los factores que actúan sobre ellos y por qué estos llegan algunos a producir oncogénesis.

## CAPÍTULO V: RECOMENDACIONES

A continuación, se enumera una serie de recomendaciones generales originadas después de realizar el estudio correspondiente, basado en el desarrollo de la revisión de estudios, artículos y libros que están avanzados en el tema sobre las neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática.

1. Crear un plan a nivel nacional para detección temprana de neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática.
2. Desarrollar estrategias a nivel de centros médicos para mejorar aspectos y efectividad en la detección de este tipo de neoplasias.
3. Realizar un estudio a nivel nacional para determinar con certeza cuales son las principales neoplasias de páncreas y vía biliar extrahepática y la tendencia de los tipos histológicos de cada una de ellas.
4. Implementar estrategias tecnológicas para poder facilitar la detección y tratamientos de este tipo de neoplasias.
5. Realizar un estudio detallado sobre las tendencias de este tipo de neoplasias en el territorio nacional, para así dirigir recursos económicos y tecnológicos a los lugares con una tendencia más alta a presentar estas neoplasias.
6. Investigar cuales de los factores epigenéticos mencionados en los estudios están presentes en nuestro territorio nacional para así dirigir con más certeza las estrategias de detección temprana.

## Referencias

- Adsay V., y otros. (2016), Pathologic evaluation and reporting of intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs) Of the pancreas and other tumoral intraepithelial neoplasms of pancreatobiliary tract: Recommendations for Verona Consensus Meeting. *Ann Surg.* 2016 Jan; 263(1): 162–177. doi: [10.1097/SLA.0000000000001173]
- Amundadottir, L. (2016). Pancreatic Cancer Genetics. *Int J Biol Sci.* 12(3): 314–325. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4753160/>
- Arthur, & Guyton. (2011). *Fisiología médica.* ELSEVIER.
- Blanco, E., & Zamora, O. (2015). La neoplasia sólida pseudopapilar del páncreas como entidad enigmática . *Revista Cubana de cirugía,* 286.
- Del Chiaro, M., y otros. (Setiembre de 2016). European experts consensus statement on cystic tumours of the pancreas. *Digestive and Liver Disease.* Volume 45, Issue. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2013.01.010>
- Distler, M., y otros. (2013). Pathohistological Subtype Predicts Survival in Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm (IPMN) of the Pancreas. *Annals of Surgery.* Volume 258 - Issue 2 - p 324–330. Recuperado de doi: 10.1097/SLA.0b013e318287ab73
- Fatechi, M., Leiva, S., & Roa, L. (2008). Cáncer de vía biliar. *Revista de Posgrado de la VI Cátedra de medicina,* 12-13.
- Kang, M., Lee, K., Jang, J., Han, W. y Kim, S. (Agosto de 2013). Evaluation of Clinical Meaning of Histological Subtypes of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm of the Pancreas. *Pancreas.* - Volume 42 - Issue 6 - p 959–966. Recuperado de doi: 10.1097/MPA.0b013e31827cddbc
- Kim, K., Park., S., Pyo, J., Yoon, S., Lee, M., Krajewski, K., y Ramaiya, N. (Enero de 2014). Imaging Features to Distinguish Malignant and Benign Branch-Duct Type Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas: A Meta-analysis. *Annals of Surgery.* Volume 259 - Issue 1 - p 72–81. doi: 10.1097/SLA.0b013e31829385f7

- Knudsen, E., Gopal, P., y Singal, A. (Marzo, 2014). The Changing Landscape of Hepatocellular Carcinoma: Etiology, Genetics, and Therapy. *The American Journal of Pathology*. Volume 184. Pp. 574-583.
- Guyton-Hall. (2006). *Tratado de Fisiología Médica* 11 Edición. México: Interamericana Mc Graw-Hill.
- Maylee H., Motoko, S., Saya, I., Yasunori, S., Yasuni, N. (18 de enero de 2013). *KRAS and GNAS mutations and p53 overexpression in biliary intraepithelial neoplasia and intrahepatic colangiocarcinomas*. Wiley Online Library. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/cncr.27955>
- Michalopoulos, N. (2014). Neuroendocrine Tumors of Extrahepatic Biliary Tract. *Pathology & Oncology Research*. Recuperado de <https://link.springer.com/article/10.1007/s12253-014-9808-4>
- October 2014, Volume 20, Issue 4, pp 765–775
- Moore, K., & Dalley, A. (2010). *Anatomía con orientación clínica*. España: Lippincott Williams & Wilkins.
- Robbins, & Cotran. (2013). *Patología Humana*. España: Elsevier.
- Schlitter, A., y otros (2014). Intraductal papillary neoplasms of the bile duct: stepwise progression to carcinoma involves common molecular pathways. *Modern Pathology* volume 27, pages 73–86. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/245538238\\_Intraductal\\_papillary\\_neoplasms\\_of\\_the\\_bile\\_duct\\_Stepwise\\_progression\\_to\\_carcinoma\\_involves\\_common\\_molecular\\_paths](https://www.researchgate.net/publication/245538238_Intraductal_papillary_neoplasms_of_the_bile_duct_Stepwise_progression_to_carcinoma_involves_common_molecular_paths)
- Sociedad Americana contra el cáncer. (6 de Enero de 2017). Recuperado el 26 de Febrero de 2017, de Sociedad Americana contra el cáncer: [https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-pancreas/acerca/estadisticas-clave.html#escrito\\_por](https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-pancreas/acerca/estadisticas-clave.html#escrito_por)
- Stotz, M., y otros. (23 de julio de 2013). Increased neutrophil-lymphocyte ratio is a poor prognostic factor in patients with primary operable and inoperable pancreatic cancer.

British Journal of Cancer volume 109, pages 416–421. Recuperado de <https://www.nature.com/articles/bjc2013332>

Supriya, K., Saha, X., Zhua, S., Fuchsb, S., y Brooks, A. (19 de enero de 2016). Forty-Year Trends in Cholangiocarcinoma Incidence in the U.S.: Intrahepatic Disease on the Rise. *The Oncologist*. Recuperado de <http://theoncologist.alphamedpress.org/content/21/5/594.short>

Tanaka, M. y otros. (setiembre-octubre de 2017). Revisiones del consenso internacional sobre las directrices de Fukuoka para el manejo de la RIPM del páncreas. *Pancreatologia*. Volumen 17, Número 5. páginas 738-753. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.07.007>

Ugarte, A., & Jezdic, S. (2010). *Cáncer de páncreas. Guía para pacientes*, 4.

Vaquero, E., & Castells, A. (2005). Tumores malignos del páncreas. En E. Vaquero, & A. Castells, *Práctica clínica en gastroenterología y hepatología* (pág. 657). Barcelona.

Wan, X., y otros. (14 de diciembre 2013). Intraductal papillary neoplasm of the bile duct. *World J Gastroenterol*. 2013. 19(46): 8595–8604. Published online 2013 Dec 14. doi: [10.3748/wjg.v19.i46.8595]. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3870504/>

Witkiewicz, A. y otros. (2015). Whole-exome sequencing of pancreatic cancer defines genetic diversity and therapeutic targets. *Nature Communications* volume 6, Article number: 6744. Recuperado de <https://www.nature.com/articles/ncomms7744?origin=ppub>