



ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación del rendimiento diagnóstico de FISH y citología guiada por ultrasonido endoscópico en las lesiones pancreatobiliares malignas



Juan Osmar Campuzano Arteaga*, Octavio Alonso Lárraga,
Julio Sánchez del Monte, Angélica Hernández Guerrero
y Guillermo de la Mora Levy

Servicio de Endoscopia, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México

Recibido el 23 de abril de 2014; aceptado el 3 de junio de 2014
Disponible en Internet el 10 de septiembre de 2014

PALABRAS CLAVE

Hibridación
fluorescente in situ;
Citología por
aspiración;
Rendimiento
diagnóstico

Resumen

Antecedentes: El ultrasonido endoscópico (USE) es el mejor método para el diagnóstico de los tumores pancreatobiliares. La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) guiada por USE con citología tiene una sensibilidad (Sn) de 90%. Sin embargo el diagnóstico no se alcanza en todos los casos. La hibridación in situ con fluorescencia (FISH) es una técnica que ha demostrado ser superior que la citología sola (Sn 97 vs. 87%). Esto sugiere que la adición de FISH aumenta el rendimiento diagnóstico e impacta el manejo de pacientes con muestras negativas.

Objetivos: Evaluar la efectividad de la adición de FISH a la citología de BAAF guiada por USE en incrementar el rendimiento diagnóstico en lesiones pancreatobiliares malignas.

Material y métodos: Se realizó un estudio de prueba diagnóstica en pacientes con diagnóstico de lesiones pancreatobiliares programados para USE más BAAF. Se realizó el USE con equipo lineal con toma de BAAF usando agujas EchoTip, enviando muestras a citología, bloque celular y para análisis de FISH/DIA (UroVysion). Se calcularon Sn, Sp, VPN y VPP tomando como estándar un constructo o la cirugía.

Resultados: Se incluyeron 56 pacientes (34 del sexo femenino), edad promedio 58,9 años. La estirpe más común fue cáncer de páncreas en 71,4%. Nueve pacientes fueron sometidos a cirugía y en el resto se llevó un seguimiento clínico y por imagen. Con el FISH se reportó una Sn de 47% y una Sp de 100%, los VPP y VPN fueron 89 y 90% respectivamente. Para la BAAD la SN fue de 85%, Sp 100%, VPP 100% y VPN 80%.

* Autor para correspondencia: Ave. San Fernando No. 22, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, México D.F. C.P. 14080.
Teléfono: +5628-0400 ext. 254.

Correos electrónicos: osmareke@hotmail.com, osmareke01@gmail.com (J.O. Campuzano Arteaga).

KEYWORDS

Fluorescent in situ hybridization;
Fine-needle aspiration;
Diagnostic yield

Conclusiones: La realización del FISH no ofrece una mejoría en el rendimiento diagnóstico de la citología de la BAAF guiada por USE.

© 2014 Asociación Mexicana de Endoscopia Gastrointestinal. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

Evaluation of the diagnostic performance of FISH and cytology guided by endoscopic ultrasound in malignant pancreaticobiliary lesions

Abstract

Background: Endoscopic ultrasound (EUS) is the best diagnostic method for pancreaticobiliary lesions. EUS-FNA guided cytology biopsy has a sensitivity 90%. However, there are some cases in which diagnosis cannot be achieved. Fluorescence in situ hybridization (FISH) technique has proven to be superior to cytology (Sn 97% vs 87%). This might suggest that performing FISH could improve the diagnostic yield and have an impact on the management of patients with previous negative samples.

Aim: To evaluate the effectiveness of FISH in improving EUS-FNA guided cytology diagnostic yield in malignant pancreaticobiliary lesions.

Material and methods: A diagnostic test was performed in patients with malignant pancreaticobiliary lesions scheduled for EUS-FNA. EUS was performed using a linear array ecoendoscope and FNA using a EchoTip needle. Samples were sent to cytology, cellular block and FISH analysis. Sn, SP NPV and PPV were calculated using a construct or surgery as standar.

Results: 56 patients (34 females, 22 males) were included. Average age was 58.9 years. The most commonly found histology was pancreatic cancer in 71.4% of cases. Nine patients were operated, and the remaining were clinically and imaging followed up. FISH Sn, Sp, VPP and VPV were 47, 100, 89 and 90% respectively. For EUS-FAN cytology were 85, 100, 100 and 80%.

Conclusions: Performing FISH does not improve diagnostic yield of EUS-FNA cytology.

© 2014 Asociación Mexicana de Endoscopia Gastrointestinal. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

Antecedentes

Durante este año, hay un estimado de 45.220 personas que serán diagnosticadas con cáncer de páncreas en los Estados Unidos. Ésta enfermedad es la 4.^a causa de muerte por cáncer y la segunda causa más común de malignidad gastrointestinal en EE. UU. Tiene un pico de incidencia entre la 7.^a y 8.^a décadas de la vida y su incidencia se encuentra en aumento, mientras la mortalidad se ha mantenido sin cambios a pesar de los tratamientos nuevos. Los cánceres derivados de las vías biliares y región ampular tuvieron una incidencia estimada en 26.190 casos en el 2011 con una mortalidad de 19.590 casos para tumor intrahepáticos y de 3.300 para los extrahepáticos. Los tumores derivados del páncreas, región ampular y de las vías biliares extrahepáticas comparten características clínicas y pronósticos similares¹.

El ultrasonido endoscópico (USE) es el mejor método para detectar y estadificar los tumores pancreáticos². La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) guiada por USE con citología de rutina mejora la certeza diagnóstica con una sensibilidad (Sn) cercana a 90%³⁻⁸. Sin embargo, a pesar de tener una cantidad adecuada de material para el análisis histológico, el diagnóstico de adenocarcinoma no es posible de determinarse en todos los casos. La fluorescencia por hibridación in situ (FISH) es una técnica que utiliza

secuencias de ADN específicas para marcar genes, telómeros, centrómeros o cromosomas para cuantificar las alteraciones cromosómicas que se correlacionan con determinadas enfermedades^{9,10}. En muestras obtenidas por cepillado biliar en sujetos con estenosis biliares malignas la utilidad diagnóstica del FISH mostró mayor efectividad diagnóstica que la citología (59 vs. 41%)^{9,10}. En 250 pacientes con lesiones sospechosas de malignidad en el páncreas se demostró que el FISH fue superior que la citología en BAAF dirigida por USE. El rendimiento diagnóstico de FISH vs. citología fue 97 vs. 87%, y cuando el FISH se evaluó por separado tuvo menor eficacia diagnóstica que la citología. Esto sugiere que la adición de FISH a la citología incrementa el rendimiento de la prueba diagnóstica hasta en un 11%, lo cual impacta en el manejo de pacientes con muestras negativas^{11,12}.

Objetivos

Evaluar si la adición de FISH a la citología en BAAF guiada por USE incrementa el rendimiento diagnóstico en lesiones pancreatobiliares malignas.

Material y métodos

Se realizó un estudio transversal de prueba diagnóstica en pacientes con diagnóstico clínico y por imagen de lesiones

pancreatobiliares enviados para realizar USE más BAAF en el Servicio de Endoscopia del Instituto Nacional de Cancerología. El estudio fue autorizado por el Comité de Ética e Investigación.

El procedimiento de ultrasonido se realizó con el paciente bajo sedación por el Servicio de Anestesiología en posición de decúbito lateral izquierdo, monitorización de signos vitales y oxígeno suplementario por puntas nasales. Los procedimientos se realizaron con equipo lineal Olympus (GF UCT160) en la consola de Olympus EUM-1, llevados cabo por endosonografistas experimentados. La toma de BAAF fue realizada usando agujas EchoTip No. 22 G (Wilson Cook) con técnica estándar (introduciendo la aguja en la lesión con el estilete y con aspiración con presión negativa) con un mínimo de 3 pases (rango 3-5). Las muestras se extendieron en laminillas y secadas al aire y se enviaron a citología para ser analizadas por el Servicio de Citopatología (no se contó con patólogo en la sala de endoscopia), además una parte de la muestra se envió para bloque celular (almacenada en solución preservativa Carbowash) y otra parte enviada en laminillas para el análisis de FISH/DIA (UroVysion) en el laboratorio de Citogenética del Instituto Nacional de Cancerología.

Se tomaron como estándar el seguimiento clínico y los casos en los que los pacientes fueron sometidos a procedimiento quirúrgico, se tomó el resultado histopatológico de la pieza. El seguimiento mínimo fue de 6 meses, considerándose los datos clínicos (progresión, deterioro, aumento de la ictericia, dolor, muerte relacionada a la malignidad) y estudios radiológicos con evidencia de progresión de la enfermedad (presencia de metástasis y aumento de volumen de las lesiones).

Análisis histopatológico

El resultado se consideró positivo cuando se estableció en la muestra de citología la presencia de células neoplásicas o con atipia marcada (National Cancer Institute) y negativo en caso contrario.

Análisis de fluorescencia por hibridación in situ

El UroVysion (*Abbott Molecular, Des Plaines/Vysis Inc. FDA approved*) está diseñado para la detección de aneuploidías de los cromosomas 3, 7, 17 así como la detección de la pérdida de la región 9p21 a través de FISH. Las sondas de UroVysion (secuencias repetidas satélite alfa para hibridar el centrómero del cromosoma 3 (CEP 3-espectro rojo), centrómero del cromosoma 7 (CEP 7-espectro verde), centrómero del cromosoma 17 (CEP 17-espectro agua); además una secuencia locus específica para (LSI p16[9p21], espectro oro, el gen p16) están mezcladas con un buffer de hibridación, la determinación de los resultados es con base en la localización/señalización de CEP 3, 7 y 17, y LSI p16(9p21) en las células o tejido hibridado y examinado a través de un microscopio de epifluorescencia equipado con los filtros para la excitación y emisión apropiados para visualizar las señales fluorescentes roja, verde, agua y oro, estas señales de hibridación indicarán las copias de los cromosomas 3, 7, 17 y del gen p16.

Criterios de inclusión

- Ambos sexos y mayores de 18 años de edad.
- Pacientes con sospecha de lesiones pancreatobiliares con características clínicas, laboratorio y por imagen (TAC o IRM o USE) de malignidad.

Criterios de exclusión

- Contraindicación para endoscopia o medicamentos anestésicos.
- Coagulopatía: IRN > 1,3, trombocitopenia: 50.000.
- Enfermedades graves concomitantes: cardíaca, pulmonar, renal, hepática.

Criterios de eliminación

- No realización las 2 pruebas diagnósticas.
- Falta de un estándar para el análisis (cirugía o constructo).

Análisis estadístico

Estudio de prueba diagnóstica para el estudio de FISH y la citología por BAAF guiada por USE. Las variables continuas serán expresadas en promedio o porcentajes, la comparación entre ellas será realizada por la prueba *t* Student. Sn, Sp, VPP, VPN y eficacia diagnóstica con intervalo de confianza (IC) de 95%.

Variables de estudio

Principales: diagnóstico positivo de carcinoma por citología y FISH.

Variables descriptivas

- Edad, sexo.

Resultados

Se incluyeron 56 pacientes (34 del sexo femenino, 22 masculino). La edad promedio fue 58,9 (rango 37-87). La estirpe más común fue adenocarcinoma de páncreas en 40 casos (71,4%), adenocarcinoma de ampulla de Váter con invasión a páncreas 3 casos (5,3%), tumores neuroendocrinos de páncreas 4 (7,1%), lesiones quísticas 4, colangiocarcinoma en 3 casos (5,3%), un paciente con metástasis de carcinoma de células pequeñas de pulmón (1,7%) y uno más con una lesión dependiente de la cara posterior del cuerpo gástrico (1,7%).

De los pacientes incluidos 10 fueron sometidos a cirugía siendo resecados 4 (2 procedimiento de Whipple, 2 pancreatocistomía distal y 6 irresecables), y en el resto se llevó un seguimiento clínico y por imagen por un promedio de 8 meses. Al momento del análisis 2 pacientes habían fallecido por el cáncer y el resto había presentado datos de progresión o metástasis a distancia siendo la mayoría manejados en el servicio de cuidados paliativos.

El 98,3% de las muestras de BAAF se reportaron como suficientes para diagnóstico y para FISH fue el 89,3%.

El estudio de FISH reportó una Sn de 47%, Sp 100%, VPP 89% y VPN 90%. Para la BAAD por USE se reportaron 85, 100, 100 y 80% respectivamente. En conjunto tuvieron una Sn de 84,6%.

Discusión

En el diagnóstico y estadificación de tumores pancreáticos y biliares el USE es el método que ha mostrado mejores resultados, sobre todo al agregarse la toma de BAAD⁵. Sin embargo, a pesar de la muestra citológica en algunos casos no se llega a un diagnóstico de certeza. Para incrementar el rendimiento diagnóstico se han evaluado métodos como el FISH con resultados favorables. Un reporte de 250 pacientes donde se tomaron muestras de diversas partes (páncreas, ganglios linfáticos) se observó que el FISH incrementó el rendimiento de la citología en un 11% y una disminución en la especificidad del 100 al 96%. En otro estudio con 69 pacientes con tumores sólidos de páncreas se observó un incremento en el rendimiento de 61-85%, detectando 13 casos adicionales con cáncer en comparación a la citología sola¹².

En nuestro estudio se reportó una suficiencia de la muestra de 98,3%, resultado similar a lo reportado en la literatura¹³; sin embargo el rendimiento diagnóstico de la adición de FISH a la citología por BAAF guiada por USE en tumores pancreatobiliares (páncreas, colangiocarcinoma, ampulla de Váter, otros) fue bajo difiriendo con los resultados reportados en estudios previos. Esto puede explicarse debido al tamaño de la muestra (56 pacientes) y a la inclusión de pacientes con diversas histologías, que en casi el 30% de los casos fueron distintas al adenocarcinoma (neuroendocrinos, ampuloma, neoplasias quísticas, metástasis), pudiendo esto influir en los resultados ya que en las series previas se incluyeron mayormente colangiocarcinoma o neoplasias sólidas de páncreas⁹⁻¹².

Por lo tanto el uso de FISH con las alteraciones genéticas medidas no ofrece ventajas sobre la citología de la BAA, siendo necesario determinar la utilidad del mismo en las diversas histologías de los tumores midiendo las alteraciones genéticas que sean comunes en cada estirpe y así poder mejorar el rendimiento diagnóstico de las biopsias tomadas de diferentes tipos de tumores pancreatobiliares. En los EE. UU. solo está aprobado el uso de FISH en el diagnóstico de colangiocarcinoma en cepillado biliar, por lo que queda abierta la determinación de las alteraciones con mejores resultados para el diagnóstico de adenocarcinoma de páncreas.

Conclusiones

En el presente estudio se encontró que la Sn del FISH fue más baja que la de citología por BAAF guiada por USE, sin haber

un incremento en el rendimiento diagnóstico. Esto puede ser debido al tamaño de la muestra y a la inclusión de pacientes con diversas estirpes histológicas.

Financiamiento

Los autores no recibieron patrocinio para llevar a cabo este artículo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. NCCN Guidelines v.2013.
2. Seicean A, Badea R, Mocan T, et al. Radial endoscopic ultrasonography in the preoperative staging of pancreatic cancer. *J Gastrointest Liver Dis.* 2008;17:273-8.
3. Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, et al. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: Diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology.* 1997;112:1087-95.
4. Gress FG, Hawes RH, Savides TJ, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy using linear array and radial scanning endosonography. *Gastrointest Endosc.* 1997;45:243-50.
5. Gress F, Gottlieb K, Sherman S, et al. Endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration biopsy of suspected pancreatic cancer. *Ann InternMed.* 2001;134:459-64.
6. Erickson RA. EUS-guided FNA. *Gastrointest Endosc.* 2004;60:267-79.
7. Cremer T, Bruckner A, et al. Detection of chromosome aberrations in the human interphase nucleus by visualization of specific target DNAs with radioactive and non-radioactive *in situ* hybridization techniques: Diagnosis of trisomy 18 with probe L1.84. *Hum Genet.* 1986;74:346-52.
8. Ried T. Interphase cytogenetics and its role in molecular diagnostics of solid tumors. *Am J Pathol.* 1998;152:325-7.
9. Rojas-Pedraza O, Alonso-Larraga JO, Sobrino-Cossio S. A comparison of extension cytology and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for the detection of malignant bile duct strictures. *Gastrointestinal Endoscopy.* 2008;67:AB168.
10. Moreno LLE, Kipp B, Halling KC, et al. Advanced cytologic techniques for the detection of malignant pancreatobiliary strictures. *Gastroenterology.* 2006;131:1064-72.
11. Levy MJ, Oberg TN, Campion MB, et al. Comparison of methods to detect neoplasia in patients undergoing endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Gastroenterology.* 2012;142:1112-21.
12. Kubilius N, Ribeiro A, Fan YS, et al. EUS-FNA with rescue fluorescence *in situ* hybridization for the diagnosis of pancreatic carcinoma in patients with inconclusive on-site cytopathology results. *Gastrointest Endosc.* 2011;74:541-7.
13. Weston BR, Buthani MS, et al. Optimizing diagnostic yield for EUS-Guided sampling of solid pancreatic lesions: A technical review. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2013;9:352-63.