



Análisis de ADN de células obtenidas por Ultrasound-Fine Needle Aspiration via Endoscópica(EUS/FNA) en Adenocarcinoma pancreático: ¿ Santo Grial?

Un paciente de mediana edad presenta Cuadro Clínico caracterizado por Pancreatitis aguda con signos imageneológicos por TAC de inflamación de cabeza pancreática sin signos aparente de necrosis de acuerdo a Clasificación de Baltasar Modificada. El cuadro había sido precedido por días previos con dolor abdominal epigástrico luego en faja con meteorismo y flatulencia, pérdida progresiva del peso. Durante la Colangiografía Retrograda Endoscópica se aprecia un conducto pancreático irregular (ERCP). Con una punción con aguja fina dirigida por CT (CT-FNA) habían resultado dudosas para malignidad. Por miedo a esta malignidad se recomienda una pancreatoduodenectomía (Whipple).

De acuerdo con varias series quirúrgicas, se estima que entre el 5% y el 35% de todos los pacientes que experimentan esta pancreatoduodenectomía (Whipple), corresponden a una Enfermedad Inflamatoria Crónica del Páncreas.

Las condiciones inflamatorias focales no se distinguen fácilmente del cáncer. La responsabilidad es de la posibilidad de que la comunidad Gastroenterológica acepte la relevancia de los cuadros pancreáticos crónicos y del adecuado entrenamiento para que se realicen mas citopatologías en estas Enfermedades Pancreáticas.

Fritscher-Ravens et al. y Varadarajulu et al. Reportan una sensibilidades del 74%, para el diagnóstico de pancreatitis crónica (CP) mediante EUS-FNA, con un 85% a 91% para aquellos sin patología pancreática. El EUS-FNA con falso-positivo es excesivamente raro.

La pancreatitis autoinmune (AIP) es una condición recientemente reconocida que presenta un nuevo desafío significativo a los cito patólogos.

La AIP y el cáncer pancreático pueden tener características clínicas y de proyección de imagen idénticas, conduciendo a una inadecuada interpretación citológica.

Desphande et al., han descrito recientemente los criterios para el diagnóstico histológico de la biopsia mediante EUS-FNA (FNAB) en la AIP. Compararon el FNA/biopsico de 16 pacientes con AIP, con las muestras de 16 pacientes portadores de adenocarcinoma pancreático confirmado y 19 con CP.

Hubo tres diagnósticos falso-positivos de cáncer, todos en pacientes portadores de AIP. Sus muestras demostraron un exceso de linfocitosis comparados con los controles, conduciendo a los investigadores a discutir que los fragmentos estromales altamente celulares de FNA con un infiltrado linfoide severo, podrían potencialmente establecer un diagnóstico de AIP y excluir falsamente su real malignidad.

Los pacientes con AIP responden a los esteroides, a menudo con desaparición completa de sus síntomas y la regresión de las anormalidades radiológicas.

Es un diagnóstico importante que no se debe obviar. Sin embargo, cuando se tiene un paciente icterico con una masa imageneológica por TAC o Resonancia Magnética ,en la cabeza del páncreas, además de una citología sospechosa, es difícil no derivar al paciente directamente a un cirujano experimentado para un procedimiento urgente de Whipple.



¿Cómo podemos reducir al mínimo estos falsos positivos con una consecuente morbimortalidad que a veces supera el 30% en el caso de llegar a la cirugía pancreática en este cuadro?

El adenocarcinoma pancreático es una condición rápidamente progresiva que podría decirse es un diagnóstico de sentencia de muerte.

Ciertamente, la estadística no está ayudando, con pocos sobrevivientes a 5 años, incluso después de una cirugía.

¿Nos estamos engañando que el diagnóstico temprano mejorará el resultado?

Quizás, el éxito se alcanza solamente después de que hayamos intentado no solo confirmar el diagnóstico presunto que nos entrega la imageneología sino que obteniendo mayor cantidad de material, sin necesidad de tener que llegar a un Whipple.

En este ítem de la bitácora, Khalid et al., reportan sobre la importancia de apreciar la imageneología en conjunto con las otras herramientas de las cuales ahora disponemos como es la Inmunooncología, basándonos principalmente, en la estructura molecular de su ADN.

¿Puede el análisis de ADN de los mismos bloques obtenidos previamente, identificar en retrospectiva a 11 pacientes de una base de datos recogida sobre períodos de 5 años con citología poco concluyente o negativa.

Su grupo de control eran 10 pacientes con estudios de citología. El material celular fue recogido por la disección manual de muestras fijadas en alcohol, con tinción de Papanicolou.

Estas células fueron examinadas por pérdida micro satelital, pérdida de mutaciones del LOH y del punto K-ras-2 usando un amplio panel de los marcadores micro satélite (ligados a los genes supresores del tumor) conocidos implicados en la carcinogénesis pancreática.

El grado del desequilibrio alélico era calculado para cada muestra usando una muestra normal y expresada como cociente. El cociente fraccional de mutación (FMR) fue calculado, como un indicador nuevo que ayuda distinguir entre las células benignas y malas.

Se define FMR como el número de marcadores mutados divididos por el número total de los marcadores micro satelitales más 1 (para el estado K-ras-2). El FMR malo era estadísticamente diferente entre los grupos malignos (positivo/poco concluyente) y benignos ($P < 0.0001$).

No se observó ninguna diferencia en el FMR entre el grupo de control poco concluyente/malo y positivo/malo, sugiriendo que esta técnica es sensible para diagnosticar malignidad sin importar la fuente de la muestra (es decir ya sea que la muestra hubiera sido obtenida de un espécimen quirúrgico o mediante EUS-FNA).

Cinco de seis casos benignos no demostraron ninguna mutación. Un solo caso que reveló una mutación de K-ras demostró una neoplasia intraepitelial pancreática en un contexto quístico predominante, luego de una larga historia de evolución de un Pseudoquistes (Kawaguchi et al. www.bioarrayanes.cl).

Ciertamente, sus datos carecen de un universo adecuado. Pero dado el número reducido de expertos en esta área de la Gastroenterología, el FMR resulta estadísticamente diferente entre los grupos malignos (positivo/poco concluyente) y benignos ($P < 0.0001$).



Tradicionalmente, se ha diagnosticado malignidad basado en las medidas cualitativas (si/no) o al exceder un valor de umbral. ¿Es maligno? Al parecer, no había positivos falsos en el grupo benigno. Sin embargo, como no se reporta ningún valor de umbral para diagnosticar malignidad, la especificidad verdadera de esta prueba no resulta ya adecuada.

¿Cuál sería el umbral que resultará significativo para que un FMR nos pudiera establecer fehacientemente el riesgo de un adenocarcinoma pancreático? Además, con un FMR alto ¿Sería la justificación para iniciar una quimio y/o quimioradioterapia curativa o paliativa?

A pesar de que se plantea que la Pancreatitis Crónica Autoinmune es insignificante, cuatro de seis casos benignos en la serie de Khalid et al eran AIP.

Fue una sorpresa encontrar el AIP predominante en una serie pequeña de enfermedad pancreática benigna.

Se deben tomar en cuenta la frase “Los ensayos anteriores para incrementar el espectro diagnóstico de la citología en CP y particularmente en Pancreatitis Crónica Idiopática han aumentado significativamente”, con la consideración de que varios autores que han citado en sus papers esta patología, de hecho, alcanzaron un espectro de diagnóstico más alto cuando el análisis molecular fue agregado a la citología convencional.

Tada et al. Encontró un 20% aproximadamente mayor sensibilidad para el cáncer cuando el análisis del gen K-ras fue agregado a la citología (el 62% contra el 81%). Itoi et al. Aumentó su sensibilidad citológica de un 76% a un sorprendente 90% usando p53 análisis inmunohistoquímico al estudiar EUS/FNA a partir de 62 masas pancreáticas.

Otros grupos han demostrado el valor de medida de actividad telomerasa como un marcador para malignidad en 70 pacientes consecutivos bajo EUS-FNA para 52 masas pancreáticas sólidas y 18 enquistadas.

Utilizamos un análisis molecular relativamente insensible semi cuantitativo contra la reacción en cadena en tiempo real de la polimerasa [RT-PCR] y no podían, por lo tanto, demostrar un papel del telomerasa en distinguir lesiones enquistadas.

Sin embargo, la telomerasa era positiva en seis de siete pacientes con citología negativa pero que últimamente tuvieron biopsia con adenocarcinoma pancreático.

Wallace et al. Había demostrado previamente la sobreexpresión de la telomerasa en muestras de EUS-FNA de nodos linfáticos del mediastino en un marcador sustituto para las micro metástasis en cáncer de pulmón.

Como prueba independiente, la telomerasa, tenía una sensibilidad algo pobre (79%) para detectar el adenocarcinoma pancreático comparada a la citología (85%) en algunas series. Sin embargo, cuando una telomerasa positiva fue combinada con citología, la sensibilidad para detectar el adenocarcinoma pancreático en 52 lesiones sólidas aumentó a partir del 85% al 98% mientras que mantenía el 100% de especificidad.

De acuerdo con un número muy pequeño de pacientes, la detección de las anomalías múltiples del ADN bajo la forma de pérdidas de la mutación y de micro satélites de K-ras, aparece prometedora como manera de distinguir lesiones pancreáticas benignas de malignas. La presencia de por lo menos dos mutaciones en el material citológico entregó una sensibilidad y especificidad de un 100%.



Si estos datos tempranos se confirman en estudios más grandes, podemos por último poder entregar un diagnóstico pancreático maligno con confianza y reducir el número de los procedimientos Whipple en pancreatitis crónicas “benignas”.

Una perspectiva igualmente emocionante es la capacidad de identificar pre-operativamente un tumor con micro metástasis mediante análisis molecular de las muestras de EUS-FNA.

Wallace et al. Cuantificó la expresión de seis genes de cáncer de pulmón asociado usando RT-PCR en muestras de EUS-FNA de nódulos linfáticos del mediastino en pacientes con cáncer de pulmón .

Al menos uno de los seis genes estaba sobre expresado en 18 de 61 (30%) pacientes cito-negativos, sugiriendo que EUS-FNA en tándem con RT-PCR pudo ayudar a predecir la reaparición maligna.

La capacidad de determinar el estado receptor por EUS-FNA antes de comenzar la quimioterapia se pudo llamar “EUS endosonómica”. El establecimiento del cáncer entonces tendría una nomenclatura adicional para connotar la respuesta completa molecular (mCR) al determinar lesiones totales y los nódulos linfáticos muestreados por EUS-FNA.

Khalid et al. Nos han dado una muestra de cuán sensible es un análisis una herramienta de análisis de ADN de tejido fino de microscópico y molecular disecado puede estar en la búsqueda del cáncer pancreático.

El análisis del ADN mediante EUS-FNA nos da la esperanza que con un análisis de ADN u otro, no probado, podremos finalmente cambiar la cara horrorosa del adeno-carcinoma pancreático. ¡Este Santo Grial será seguramente bien digno de una cruzada!