

# Caracterización inmunohistoquímica de los tumores hepáticos. Una aproximación práctica al diagnóstico del hepatocarcinoma

JESÚS JAVIER SOLA GALLEGO Y ÁNGEL PANIZO SANTOS

Departamento de Anatomía Patológica. Clínica Universidad de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

El diagnóstico de los tumores hepáticos se basa principalmente en los hallazgos histológicos clásicos. Sin embargo, con relativa frecuencia y dependiendo notablemente del contexto clínico, serán necesarios estudios complementarios que permitan definir, por una parte, la naturaleza de la lesión y, por otra, su potencial de comportamiento biológico agresivo o no. El estudio inmunohistoquímico, y a veces las técnicas de hibridación in situ, permiten, en la mayoría de los casos, deter-

minar tanto la naturaleza primaria o metastásica de la lesión, así como, en ocasiones, establecer la naturaleza maligna o benigna de la lesión en estudio.

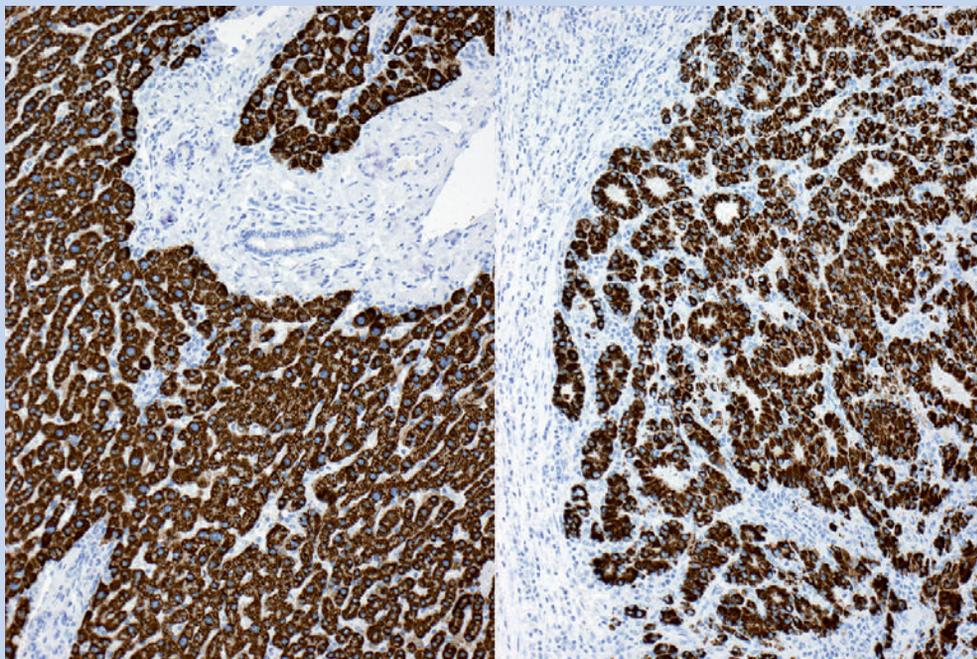
Como es bien conocido, la mayoría de las lesiones tumorales hepáticas son de origen metastásico, mientras que las lesiones primarias son relativamente poco frecuentes y habitualmente con unos antecedentes diferentes (hepatopatía crónica, cirrosis hepática). No obstante, es un problema habitual la caracterización de las lesiones tumorales hepáticas, que se podría resumir en el binomio primario-metastásico en un primer escalón y, posteriormente, en el establecimiento del origen de la lesión metastásica, si es el caso, o en la caracterización exacta del tumor primario, básicamente hepatocarcinoma-adenoma frente a tumor de origen biliar (colangiocarcinoma).

En los últimos años se han estudiado innumerables marcadores inmunohistoquímicos para abordar este problema, aunque sólo unos pocos han mostrado la suficiente sensibilidad y especificidad como para ser empleados en la práctica rutinaria<sup>1</sup>. Como en otras situaciones similares, es muy importante destacar que no existe un único marcador que permita esclarecer las decisiones diagnósticas citadas. En todos los casos, será necesaria la utilización de una juiciosa combinación de los marcadores disponibles, adaptados a la situación clínica y a los hallazgos morfológicos clásicos.

El objeto de esta revisión es la presentación de los marcadores inmunohistoquímicos que más se ajustan a los criterios apuntados, más que a la descripción de los perfiles inmunohistoquímicos de las diferentes lesiones neoplásicas hepáticas. Esta aproximación probablemente permita una aplicación más práctica de la técnica ya que, como se ha comentado, no hay un solo marcador que permita la identificación exacta de la naturaleza de estas lesiones.

## Puntos clave

- No existe una “bola mágica” que permita el diagnóstico definitivo de una lesión neoplásica hepática, ya sea primaria o metastásica.
- Es necesaria una cuidadosa integración de los datos clínicos, morfológicos clásicos y de los resultados de las técnicas complementarias inmunohistoquímicas para obtener un diagnóstico definitivo.
- Sólo la cuidadosa selección de un perfil inmunohistoquímico adaptado a los hallazgos clínicos y a los aspectos histológicos convencionales permitirá la caracterización adecuada de una lesión neoplásica hepática.
- Es muy importante interpretar los resultados del perfil inmunohistoquímico atendiendo a las excepciones, que aunque poco frecuentes, se presentan en la práctica habitual.



**Figura 1.** Inmunorreactividad con HEPAR-1. Tanto los hepatocitos no neoplásicos (izquierda) como un hepatocarcinoma moderadamente diferenciado, parcialmente pseudoglandular (derecha), presentan un patrón citoplasmático granular difuso e intenso. Nótese la ausencia de tinción estromal o del epitelio biliar (IHQ  $\times 200$ ).

## HEPPAR-1 (HEPATOCTE PARAFFIN 1)

El marcador inmunohistoquímico ideal sería aquel que permitiera definir exactamente el origen hepatocitario de una determinada lesión. En esta línea, Wennerberg et al<sup>2</sup> desarrollaron, en 1993, un anticuerpo monoclonal derivado de la inyección de hepatocitos humanos procedentes de un trasplante fallido en ratón, al que denominaron *hepatocyte paraffin 1* (HepPar 1). Este anticuerpo está dirigido a elementos estructurales de las mitocondrias hepatocitarias y produce una tinción citoplasmática granular difusa tanto de los hepatocitos benignos como malignos (fig. 1). Este anticuerpo muestra una elevada sensibilidad y especificidad global (entre el 80 y el 90% de sensibilidad y más del 95% de especificidad) para determinar el origen hepatocitario de una lesión<sup>3,4</sup>. Sin embargo, no discrimina entre proliferaciones hepatocitarias benignas o malignas (adenoma-nódulo displásico-hepatocarcinoma). Además, su expresión disminuye notablemente en los hepatocarcinomas poco diferenciados y en la variante esclerosante del hepatocarcinoma (HCC)<sup>4,5</sup>.

Aunque es poco frecuente, puede encontrarse un patrón de inmunorreactividad similar en tejidos normales derivados del seno endodérmico y en las variantes hepatoideas (poco frecuentes) de adenocarcinomas gástricos, ováricos y del tumor del seno endodérmico.

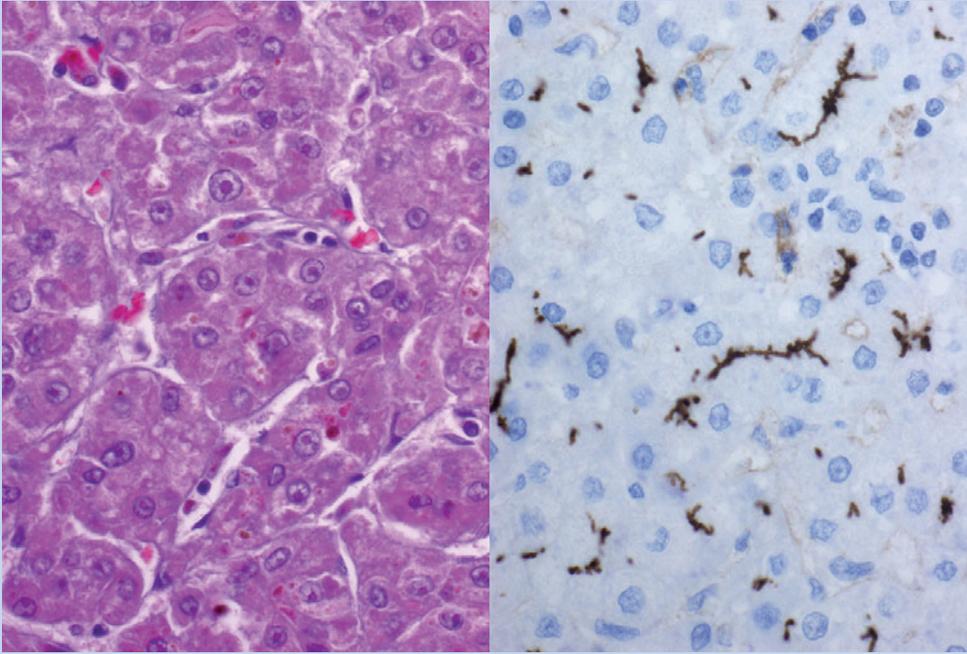
Por tanto, aun siendo un buen marcador, su presencia o ausencia puede no ser completamente definitiva para establecer el origen hepatocitario de una lesión.

## ALFAFETOPROTEÍNA

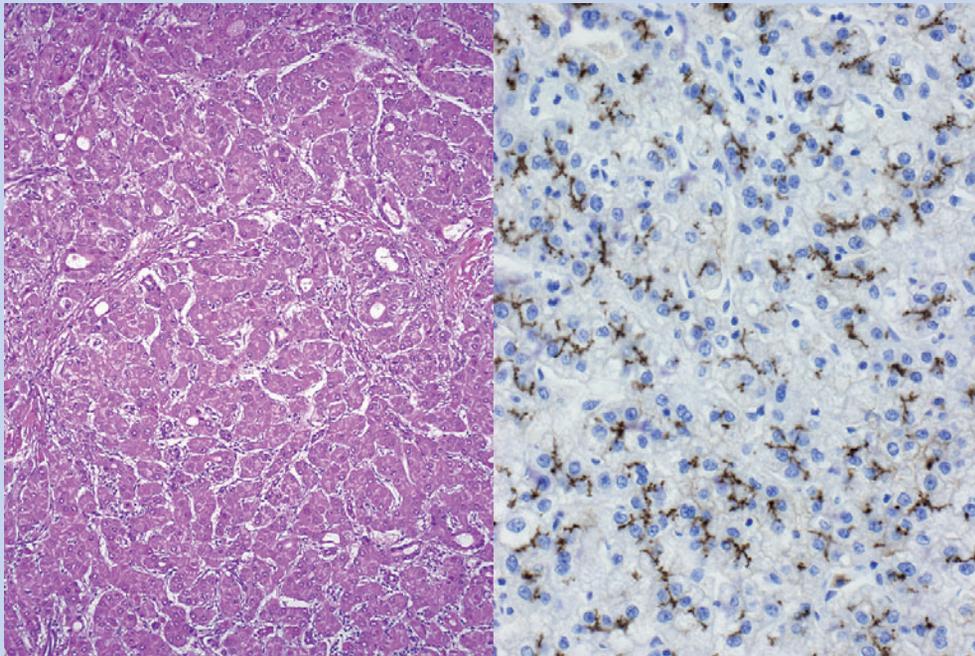
La alfafetoproteína (AFP) es una proteína fetal que no se expresa en los órganos adultos, sino durante la vida fetal en el hígado, el seno endodérmico y el tracto intestinal. Sin embargo, es un marcador sérico neoplásico de uso muy frecuente, aunque debatido, en el cribado del HCC en los pacientes con hepatopatía crónica (cirrosis). Sólo entre un 25 a un 50% de los HCC tienen expresión inmunohistoquímica de AFP<sup>4,6</sup>, con un alto porcentaje de falsos negativos, y además se expresa en tumores derivados del seno endodérmico y de origen germinal. Además, no hay una buena correlación entre la elevación de los valores séricos de AFP y su detección inmunohistoquímica tisular. A pesar de la tradición, en nuestra experiencia, como en la de otros autores, es problemático y frecuentemente difícil de interpretar<sup>1</sup>.

## ANTÍGENO CARCINOEMBRIONARIO

El antígeno carcinoembrionario (CEA) se detecta en el glicocáliz de las células epiteliales fetales y se expresa ampliamente en muchos carcinomas, especialmente adenocarcinomas. Aunque hay diferentes anticuerpos frente a este antígeno, el más útil en este contexto es el anticuerpo policlonal. Este anticuerpo reacciona de forma cruzada con el CEA y otras proteínas similares, como NCA, NCA2 y la glucoproteína



**Figura 2.** Tinción con anticuerpo policlonal frente a CEA (pCEA) en un hepatocarcinoma trabecular (derecha) en el que se aprecia producción focal de secreción biliar. La tinción con pCEA reproduce la arquitectura canalicular de los hepatocitos neoplásicos (HE  $\times 400$ ; IHQ  $\times 400$ ).

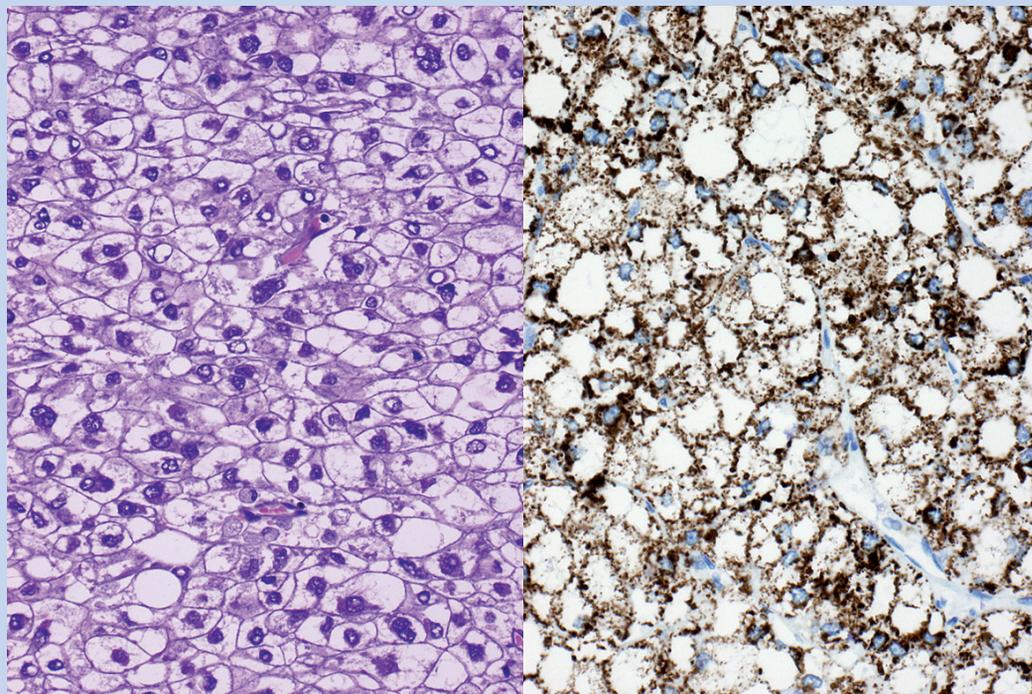


**Figura 3.** La tinción con anticuerpo frente a CD10 (izquierda) tiene el mismo patrón canalicular que se obtiene con pCEA en un hepatocarcinoma moderadamente diferenciado, parcialmente pseudoglandular (derecha) (HE  $\times 200$ ; IHQ  $\times 400$ ).

biliar 1. Esta inmunorreactividad cruzada da lugar a un patrón característico canalicular (fig. 2) en los tumores de origen hepatocitario (adenoma, HCC). Este patrón es notablemente específico del HCC frente a otros tumores malignos, pero relativamente poco sensible (50%-95%), con ausencia de inmunorreactividad en HCC poco diferenciados<sup>7-9</sup>. El patrón de inmunorreactividad es de membrana, con o sin tinción cito-

plasmática, en adenocarcinomas de colon, estómago, pulmón y páncreas, entre otros.

Este patrón de marcaje canalicular no se obtiene con la mayoría de los anticuerpos monoclonales frente a CEA, por lo que resulta esencial resaltar que este antígeno puede ser útil sólo si se dan estas dos condiciones: utilización de un anticuerpo policlonal y patrón de inmunorreactividad canalicular<sup>1</sup>.



**Figura 4.** Los hepatocarcinomas con células claras (derecha) suponen un problema de diagnóstico diferencial con otros tumores de células claras primarios o metastáticos en el hígado. La tinción con TTF-1, con un patrón similar al del HEPAR-1 demuestra su origen hepatocitario en este caso (derecha) (HE  $\times 400$ ; IHQ  $\times 400$ ).

## ANTÍGENO COMÚN DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

El antígeno común de la leucemia linfoblástica aguda (CD10) es una metaloproteína de membrana que se expresa en multitud de tejidos normales y neoplásicos. Se identificó como marcador de HCC en estudios de *microarrays* con un patrón canalicular similar al del CEA (fig. 3), específico de hepatocitos benignos o malignos<sup>10</sup>. Con este patrón tiene una especificidad del 95% para el HCC<sup>8</sup>. Su sensibilidad varía notablemente de forma proporcional al grado de diferenciación: el 85% en los casos de HCC bien diferenciado frente a un 25% en los HCC poco diferenciados<sup>1</sup>.

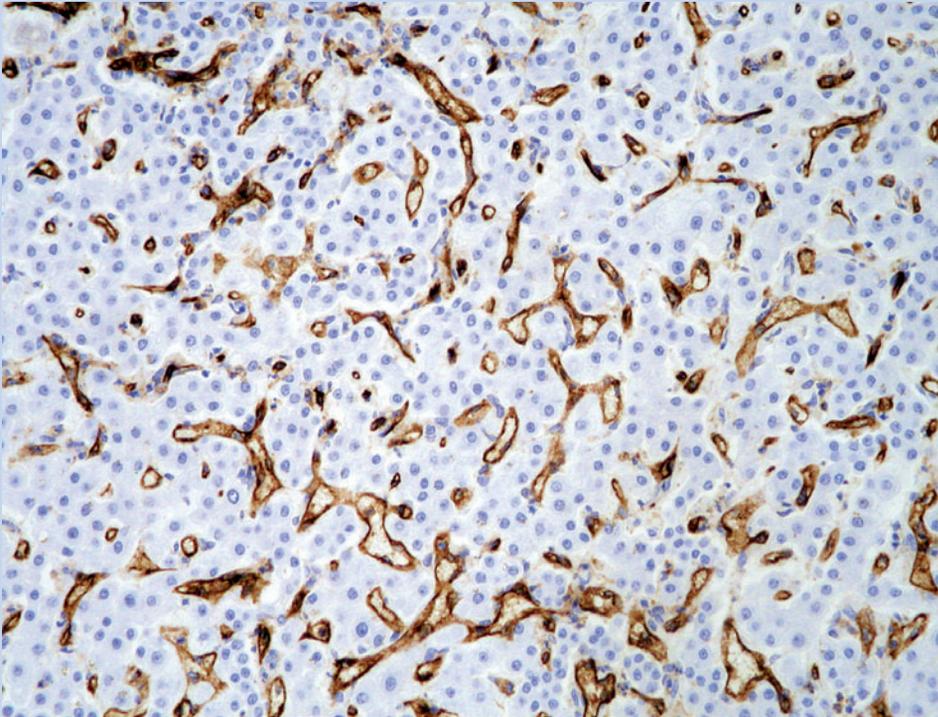
## FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN TIROIDEO

El factor de transcripción tiroideo 1 (TTF-1) forma parte de la familia de factores de transcripción NKx2 y se expresa en las células epiteliales del tiroides y del pulmón. Los diferentes anticuerpos frente a esta proteína tienen una tinción nuclear en las células neoplásicas originadas en esos órganos (adenocarcinomas en el caso del pulmón), así como en carcinomas de células pequeñas originados en diferentes órganos. El patrón de tinción citoplasmático se detectó en un pequeño porcentaje de tumores de diversos orígenes e inicialmente se consideró como tinción inespecífica<sup>11</sup>. Sin embargo, con algunos de los anticuerpos comerciales disponibles se ha indicado una tinción constante en hepatocitos neoplásicos o no. Lei et

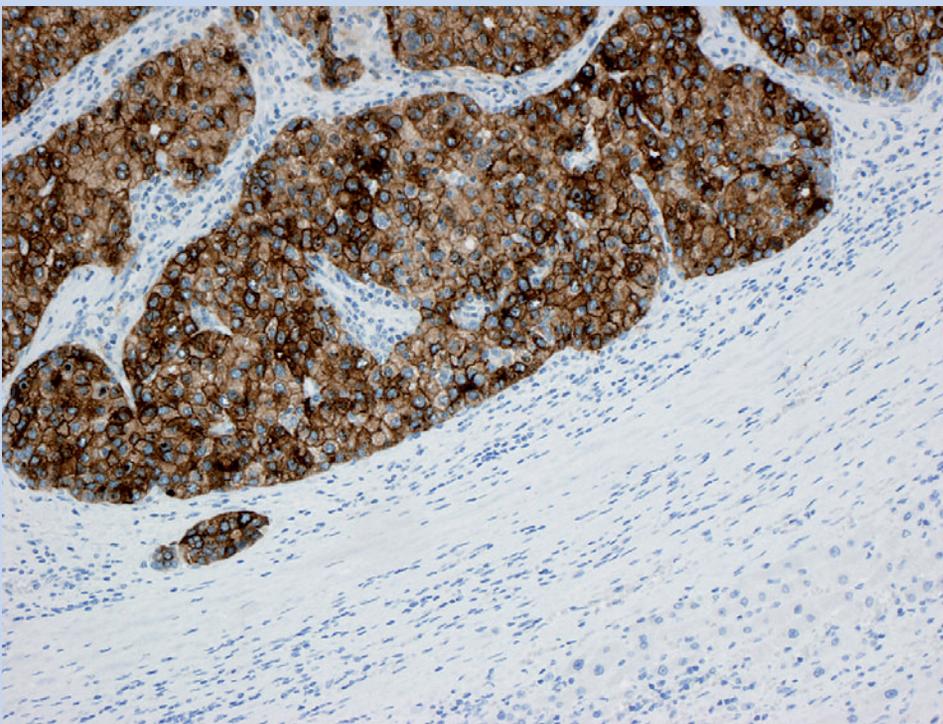
al<sup>12</sup> observaron que el 92,5% de los HCC tenían este patrón de tinción de forma difusa e intensa, aunque la sensibilidad variaba entre un 100% para los HCC bien diferenciados y un 56% para los poco diferenciados (fig. 4), cifras muy similares a las HEPAR-1 y a las de otros estudios. Esos mismos autores señalan que, combinado con anticuerpos frente a CK19, se obtiene una sensibilidad del 97%. Es necesario recalcar que, como en el caso del CEA, estos resultados dependen completamente del anticuerpo empleado.

## MARCADORES VASCULARES

Los marcadores vasculares (CD34 y CD31) son dos glucoproteínas de adhesión celular que se expresan de forma intensa, aunque con una especificidad diferente, en las células endoteliales. En condiciones normales, las células endoteliales de los sinusoides hepáticos no expresan ninguno de estos marcadores, o si lo hacen es de un forma focal y muy poco intensa. Sin embargo, en el HCC las células sinusoidales intratumorales tienen una inmunoreactividad de membrana difusa e intensa, atribuida al fenómeno de capilarización<sup>13</sup> que acontece en el HCC (fig. 5). Puede verse una inmunoreactividad limitada y focal en lesiones benignas hepáticas como cirrosis<sup>14</sup>, hiperplasia nodular focal o adenomas hepatocelulares<sup>5</sup>, habitualmente cerca de los tractos fibrosos portales. El patrón difuso e intenso se considera muy característico del HCC. En otras situaciones estos marcadores definirán la naturaleza endotelial de la lesión en tumores primarios hepáticos poco frecuentes, como el hemoangioma endotelial epitelioide, en los que se plantea el diagnóstico diferencial con otros tumores epiteliales, incluido el HCC.



*Figura 5. Marcada inmunorreactividad frente a CD34 en las células endoteliales de un hepatocarcinoma bien diferenciado asociado a una cirrosis por virus C (IHQ ×400).*



*Figura 6. Un alto porcentaje de los hepatocarcinomas, especialmente con un grado de diferenciación moderado o bajo, son inmunorreactivos con patrón de membrana y reforzamiento citoplasmático frente a glipican-3. Nótese la ausencia de tinción en el estroma, las células inflamatorias y los hepatocitos no neoplásicos (ángulo inferior izquierdo) (IHQ ×200).*

## GLIPICAN 3

Glipican 3 es una proteína oncofetal de la familia de los proteoglicanos relacionados con factores de crecimiento asociados a la heparina. No se expresa en el tejido hepático adulto, aunque aparece sobreexpresada en un alto porcentaje (72-

100%) de HCC<sup>15</sup>, con un patrón de tinción de membrana y citoplasma difuso e intenso (fig. 6). A diferencia de otros marcadores, como HEPAR-1, es más sensible en HCC poco diferenciados<sup>1</sup>. No obstante, también se expresa en otros tumores como melanomas, tumores del seno endodérmico o coriocarcinomas.

## QUERATINAS Y OTROS MARCADORES EPITELIALES

La utilización durante largo tiempo de anticuerpos frente a “cócteles” de queratinas ha creado cierta confusión y datos muy variables en cuanto a la inmunoreactividad de los HCC, colangiocarcinomas y carcinomas metastáticos en el hígado. Los hepatocitos, y por tanto la mayoría de los HCC, expresan CK8 y CK18, pero en la mayoría de los casos no expresan CK7, CK19 o CK20. Sin embargo, el epitelio biliar expresa de manera constante CK7 y CK19<sup>3</sup>. La inmensa mayoría de los carcinomas metastáticos expresan CK7 (estómago, páncreas, pulmón, mama) o CK20 (colon y, en menor medida, estómago o páncreas) y en ocasiones CK19 (páncreas, estómago, mama). Los cócteles de queratinas más empleados (CAM 5,2 y AE1/3) son típicamente negativos o con una tinción focal y de baja intensidad en los hepatocitos normales, dependiendo en gran medida de la presencia de fenómenos de colestasis, pero se encuentra inmunoreactividad difusa e intensa en un amplio porcentaje de HCC, especialmente con la CAM 5,2<sup>1,3,16</sup>.

Otros marcadores epiteliales, como el antígeno epitelial de membrana (EMA), MOC31 y Ber-EP4, son típicamente negativos en el HCC y se expresan en adenocarcinomas, aunque puede encontrarse una inmunoreactividad focal en el HCC hasta en un 45% de los casos<sup>17-18</sup>.

En situaciones concretas, y dependiendo del contexto clínico, será necesaria la aplicación de marcadores de origen tisular (TTF-1 con patrón nuclear, CDX2, receptores hormonales, RCC) o de diferenciación (cromogranina, sinaptofisina, proteína S-100, HMB-45, melan A, vimentina) que permitirán, en función del resultado, definir con mayor o menor precisión el origen de una determinada lesión<sup>19,20</sup>. Conviene no olvidar que, aunque la mayoría de las lesiones neoplásicas primarias hepáticas derivan de hepatocitos o epitelio biliar, hay otros tumores primarios poco frecuentes con perfiles específicos, como el ya comentado hemangioendotelioma epitelioide o

los angiomiolipomas, especialmente la variante epitelioide (HMB-45 y melan A positivo, con queratinas y proteína S100 negativas).

Es muy importante destacar una vez más que no hay un marcador específico de lesión y que en todos los casos es necesario integrar el contexto clínico, los datos morfológicos clásicos y los resultados de los perfiles inmunohistoquímicos más o menos amplios disponibles para llegar a una correcta caracterización de la lesión en estudio.

Como resumen de lo expuesto hasta aquí, en la tabla 1 se propone un perfil ideal de las principales lesiones tumorales hepáticas, tanto primarias como metastásicas, con las salvedades ya expuestas<sup>1-3</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA



● Importante ●● Muy importante

- Allende DS, Yerian L. Immunohistochemical markers in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Pathol Case Rev.* 2009;14:40-6.
- Wennerberg A, Nalesnik M, Coleman W. Hepatocyte paraffin 1: a monoclonal antibody that reacts with hepatocytes and can be used for differential diagnosis of hepatic tumors. *Am J Pathol.* 1993;143:1050-4.
- Varma V, Cohen C. Immunohistochemical and molecular markers in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Adv Anat Pathol.* 2004;11:239-49.
- Kakar S, Gown A, Goodman Z, Ferrell LD. Best practices in diagnostic immunohistochemistry. Hepatocellular carcinoma versus metastatic neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2007;131:1648-54.
- Matsuura S, Aishima S, Taguchi K, Asayama Y, Terashi T, Honda H, et al. “Scirrhous” type hepatocellular carcinomas: a special reference to expression of cytokeratin 7 and hepatocyte paraffin 1. *Histopathology.* 2005;47:382-90.
- Chu P, Ishizawa S, Wu E, Weiss LM. Hepatocyte antigen as a marker of hepatocellular carcinoma. An immunohistochemical comparison to carcinoembryonic antigen, CD10, and alpha-fetoprotein. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:978-88.
- Lau S, Prakash S, Geller S, Alsabeh R. Comparative immunohistochemical profile of hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and metastatic adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2002;33:1175-81.

**Tabla 1.** Perfil ideal de las principales lesiones tumorales hepáticas

Tumor	Hepatocarcinoma	Adenoma hepatocelular	Colangiocarcinoma	Carcinoma metastásico
Marcadores positivos	HEPAR-1	HEPAR-1	CK7	Dependiendo del origen:
	CD10	CD10	CK19	CK7, CK19, CK20,
	pCEA (patrón canalicular)	pCEA (patrón canalicular)	pCEA y mCEA (patrón de membrana y citoplasmático)	pCEA y mCEA (patrón de membrana y citoplasmático)
	TTF-1 (citoplasmático)	TTF-1 (citoplasmático)	EMA	EMA, Ber-EP4, MOC31
	Glipican-3			Cromogranina, sinaptofisina
Marcadores negativos	CD34 (sinusoidal)			Receptores hormonales Inhibina, Melan-A
	CK20	CK7, CK19, CK20	CK20	
	TTF-1 (nuclear)	mCEA, TTF-1 (nuclear)	TTF-1 (nuclear)	
	CDX2	CDX2	CDX2	
	PSA	PSA	PSA	
	Receptores hormonales	Receptores hormonales CD34, glipican-3	Receptores hormonales HEPAR-1	

8. Borscheri N, Roessner A, Rocken C. Canalicular immunostaining of nephrilysin (CD10) as a diagnostic marker for hepatocellular carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:1297-303.
9. Morrison C, Marsh W, Frankel W. A comparison of CD10, topCEA, MOC-31, and hepatocyte for the distinction of malignant tumors in the liver. *Mod Pathol.* 2002;15:1279-87.
10. Xiao SY, Wang HL, Hart J, Fleming D, Beard MR. cDNA arrays and immunohistochemistry identification of CD10/CALLA expression in hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol.* 2001;159:1415-21.
11. Wiczorek TJ, Pinkus JL, Glickman JN, Pinkus GS. Comparison of thyroid transcription factor-1 and hepatocyte antigen immunohistochemical analysis in the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma, metastatic adenocarcinoma, renal cell carcinoma, and adrenal cortical carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:911-21.
12. ● **Lei JY, Bourne PA, di Sant'Agnese PA, Huang J. Cytoplasmic staining of TTF-1 in the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma vs cholangiocarcinoma and metastatic carcinoma of the liver. *Am J Clin Pathol.* 2006;125:519-25.**
13. De Boer W, Segal A, Frost F, Sterrett GF. Can CD34 discriminate between benign and malignant hepatocytic lesions in fine-needle aspirates and thin core biopsies? *Cancer.* 2000;90:273-8.
14. Amarapurkar AD, VibhavKim V. Angiogenesis in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2008;51:323-8.
15. ● **Abdul-AI H, Makhoul H, Wang G, Goodman ZD. Glypican-3 expression in benign liver tissue with active hepatitis C: implications for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hum Pathol.* 2008;39:209-12.**
16. Wee A. Diagnostic utility of immunohistochemistry in hepatocellular carcinoma, its variants and their mimics. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2006;14:266-72.
17. Proca D, Niemann T, Porcell A, DeYoung BR. MOC-31 immunoreactivity in primary and metastatic carcinoma of the liver: report of findings and review of other utilized markers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2000;8:120-5.
18. Wang L, Vuolo M, Suhlrad MJ, Schlesinger K. HepPar1, MOC-31, pCEA, mCEA and CD10 for distinguishing hepatocellular carcinoma vs. metastatic adenocarcinomas in liver fine needle aspirates. *Acta Cytol.* 2006;50:257-62.
19. Murakata L, Ishak K, Nzeako U. Clear cell carcinoma of the liver: a comparative immunohistochemical study with renal clear cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2000;13:874-81.
20. ● **Geller S, Dhall D, Alsaleh R. Application of immunohistochemistry to liver and gastrointestinal neoplasms: liver, stomach, colon, pancreas. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:490-9.**