

ARTÍCULO ORIGINAL

Citoqueratina 19, p63 y CD56 en la evaluación de carcinoma papilar de tiroides cuando la morfología no es clara: experiencia en el Hospital Universitario de San Ignacio

ISABEL C. BOLÍVAR¹, JORGE L. RODRÍGUEZ¹, LUIS F. JARAMILLO², MADDY MEJÍA³

Resumen

El diagnóstico de carcinoma papilar (CP) de tiroides se realiza, en la gran mayoría de casos, teniendo en cuenta los hallazgos histopatológicos en hematoxilina eosina, pero cuando la morfología no es clara o la variante está encapsulada, se dificulta el diagnóstico; además, algunos cambios hiperplásicos floridos pueden confundir al patólogo y llevarlo a un diagnóstico erróneo. Diferentes estudios han demostrado que el uso de marcadores de inmunohistoquímica puede llegar a ser útil en casos en que el diagnóstico se dificulta. Se revisó la expresión de CK19, CD56 y p63 en CP y en lesiones foliculares neoplásicas no papilares y no neoplásicas. Se seleccionaron 29 casos de CP, incluidas diferentes variantes y 31 casos de patología tiroidea que no correspondieran a CP. El 100 % de los CP mostró positividad fuerte y difusa para CK19, y el 88 % mostró negatividad con CD56. Solo el 64 % de todos los CP mostraron positividad focal y selectiva nuclear con p63. El 100 % de los casos de patología tiroidea no CP mostró positividad fuerte y difusa para CD56 y negatividad con CK19. Con este estudio se corrobora lo encontrado en estudios previos: el uso de CK19 y CD56 es una herramienta útil en el diagnóstico de CP cuando la morfología no es clara.

Palabras clave: carcinoma, tiroides, patología.

1 Médico(a) residente de Patología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

2 Médico patólogo. MsC. Director del Departamento de Patología, Hospital Universitario San Ignacio. Profesor, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

3 Médica patóloga. Profesora asistente, Pontificia Universidad Javeriana-Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia.

Title: Cytokeratin 19, p63 and CD56 in Assessing Papillary Thyroid Carcinoma when the Morphology is not Clear: Experience at the Hospital Universitario San Ignacio

Abstract

Papillary carcinoma of the thyroid (PC) is diagnosed in most of the cases only by H&E morphology; however, the diagnosis in some cases became quite difficult, and the lesion can be over-called, for example, when the lesion has a capsule or when there are florid hyperplastic changes in goiter. And it is well known that a misdiagnosis of a PC can bring important clinical consequences. Studies have showed that immunohistochemistry can be helpful in those cases, however several markers have been proposed. We assessed expression of three marker proposed in other study (CK19, CD56 and p63) in PC and non-papillary lesions, neoplastic and non-neoplastic. 29 cases of PC were included and 31 cases on non-papillary lesions 96% of PC were strongly positive for CK19, and 90% were CD56 negative. Only 64% of all PC shower focal positivity for p63. 100% of the cases of non-papillary lesion were strongly positive for CD56 and negative for CK19. With these results, we were able to confirm previous findings about the use of CK19 and CD56 could be useful in the cases of PC when the morphology on H&E is doubtful.

Key words: carcinoma, thyroid, pathology.

Introducción

La incidencia anual de carcinoma de tiroides en Colombia es de 2000 por cada 100.000 personas, con 245 muertes, y una franca tendencia a presentarse con mayor frecuencia en la población femenina, en la cual, además, se registra una

mayor tasa de mortalidad, con un radio mujer:hombre de 4:1 [1-4]. El carcinoma papilar de tiroides (CP) es tumor epitelial maligno con diferenciación celular folicular. A pesar de la tendencia de esta neoplasia a tener invasión linfática con metástasis a los ganglios linfáticos cervicales, si es descubierta a tiempo y es tratada correctamente, la sobrevida y el pronóstico son excelentes (mayor al 90%). El diagnóstico de CP se ha definido con base en sus características arquitecturales y citológicas: núcleos elongados u ovoides con cromatina pálida, montados unos sobre otros, membrana nuclear con contornos irregulares con formación de hendiduras y pseudoinclusiones y presencia de cuerpos de *psammoma* [2].

Se han descrito diferentes variantes del CP. Las más conocidas son la clásica, la folicular, la folicular encapsulada, la sólida y trabecular, la difusa esclerosante y la de célula alta y columnar y el microcarcinoma papilar [2].

A pesar de que se han propuesto criterios morfológicos para el diagnóstico de la variante folicular (folículos elongados o irregulares con coloide oscuro o presencia de histiocitos multinucleados irregulares en su luz [5-6]) se ha demostrado que existen desacuerdos interobservador entre patólogos a la hora de diagnosticar estas lesiones [7-8], sobre todo cuando los hallazgos nucleares no están claros, cuando el CP está encap-

sulado o en caso de que se origine en el contexto de una tiroiditis de Hashimoto.

También se han encontrado dificultades diagnósticas, por ejemplo, en la hiperplasia tiroidea, en la cual se pueden encontrar hallazgos morfológicos que pueden llevar a un diagnóstico erróneo de CP. Tales hallazgos pueden ser hiperplasia papilar florida, focos de aclaramiento de la cromatina nuclear, focos con hendiduras o pseudoinclusiones nucleares, focos de formación de microfolículos, atipia citológica, entre otros [9-10].

Por esto, otros autores han intentado mejorar la sensibilidad diagnóstica con el uso de marcadores de inmunohistoquímica [10-15], y de estos marcadores los que mejores resultados han mostrado son la citoqueratina 19 (CK19), el p63 y el CD56 [3].

La *CK19* es una queratina de bajo peso molecular presente en el epitelio glandular, y de todas las citoqueratinas disponibles, esta ha sido la que mejores resultados ha mostrado en el diagnóstico de lesiones tiroideas. Muestra negatividad en el epitelio tiroideo normal, y positividad fuerte y difusa citoplasmática, y en membrana, en los carcinomas papilares de tiroides —aun en el de variante folicular— y en las áreas que carecían de los cambios nucleares del CP; mientras que en las otras lesiones (nódulos foliculares benignos y

carcinoma folicular) muestra positividad focal en zonas de degeneración y compresión [3,11-18].

El *CD56* o *N-CAM* es un miembro de la familia de las moléculas de adhesión calcio independientes que median la adhesión hemotípica y heterotípica de célula-célula. También la interacción heterofílica con proteoglicanos como heparán-sulfato y colágenos tipos I-IV y IX.

El *CD56* se expresa en el epitelio tiroideo normal y en entidades benignas como enfermedad de Graves, tiroiditis, nódulos hiperplásicos, adenomas foliculares y de células de Hürthle, carcinomas foliculares y carcinoma de células de Hürthle; por el contrario, es negativo en los casos de CP, incluidas las variantes encapsuladas, folicular y micropapilar, así como en el CP en un contexto de tiroiditis de Hashimoto [3,19-21].

El *p63* es un homólogo del *p53* (gen supresor de crecimiento tumoral). Se ha demostrado que el *p63* podría ser un marcador útil en el diagnóstico del CP de tiroides [3,22,23]. Este estudio pretende conocer si estos resultados son reproducibles en nuestro medio.

Materiales y métodos

Se buscaron todas las lesiones y tumores tiroideos en la base de datos del Departamento de Patología del Hospital

Universitario San Ignacio desde el 2007 hasta el 2009. Se revisaron los datos demográficos de los pacientes, sus historias clínicas y los reportes de patología. Se seleccionaron 29 casos de CP, incluidas diferentes variantes y 31 casos de patología tiroidea que no correspondieran a CP. A los 60 casos se les realizaron estudios de inmunohistoquímica con CK19, CD56 y p63 en el bloque de parafina seleccionado después de revisar las láminas de hematoxilina y eosina de cada caso. Por separado, dos patólogos revisaron los estudios de inmunohistoquímica para luego revisar en conjunto los casos en los que hubo discordancia en la interpretación.

Se consideraron positivos los casos en los cuales se observó tinción de membrana con o sin tinción citoplasmática en el 10% o más de las células neoplásicas con CK19 y CD56, y tinción nuclear en cualquiera de las células neoplásicas con p63. Los reactivos utilizados fueron: CK19 de Novocastra, Clon b170, 1 mL liofilizado NCL-CK19 FP; proteína p63 de Novocastra, Clon 7JUL, 1 mL liofilizado NCL.p63 FP (HIER); CD56 (NCAM) de Novocastra, Clon CD564, 1 mL liofilizado NCL-CD56-504 P (HIER).

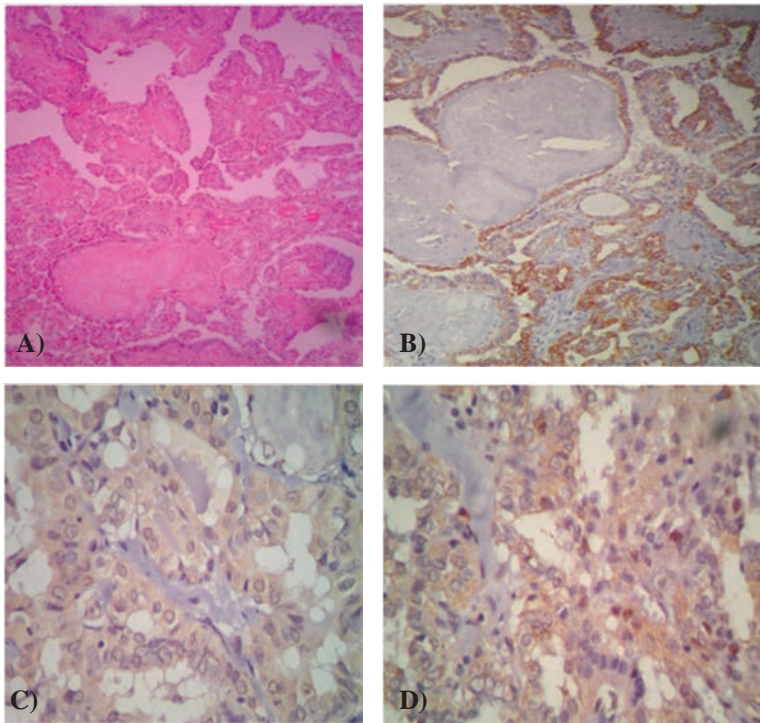
Resultados

De los 29 carcinomas papilares, 12 correspondían a la variante papilar clásica;

6, a la variante folicular, uno de ellos con cambio de célula clara; 5, a la variante de célula alta; 4, al microcarcinoma papilar, y 2, a la variante oncocítica. Tres de estos casos se excluyeron del análisis por ausencia total de inmunomarcación (una variante clásica, una variante folicular y una variante de célula alta). De los 26 casos restantes, 25 mostraron positividad intensa de membrana citoplasmática con CK19 y 22 fueron negativos con CD56 (figuras 1 y 2).

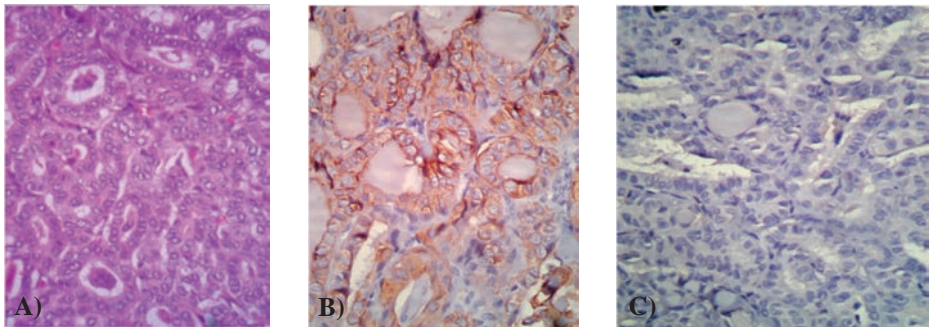
El caso que mostró negatividad con CK19 fue positivo para CD56, por lo que se evaluó nuevamente y se encontró que no cumplía los criterios histológicos para CP [9,10] y que correspondía a un nódulo hiperplásico (figura 3).

Los otros dos casos positivos para CD56 lo fueron también para CK19. Así mismo, se evaluaron de nuevo y se encontró que correspondían a la variante de CP Warthin-like, recientemente descrita [24-26] (figura 4). Esta variante semeja morfológicamente al tumor de Warthin de las glándulas salivares, se ha asociado a tiroiditis linfocítica y se caracteriza por presentar papilas tapizada por células altas eosinofílicas con núcleos de CP separadas por un estroma rico en linfocitos y plasmocitos; además, se ha descrito que posee un comportamiento similar a la variante clásica.



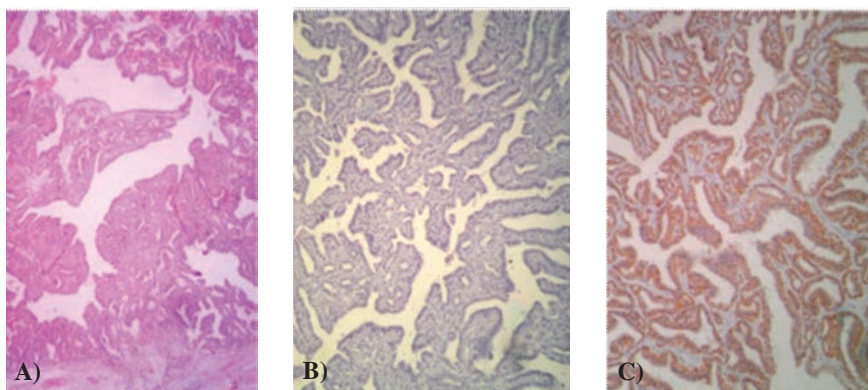
A) Coloración de hematoxilina eosina (10X); B) CK19 que muestra positividad fuerte y difusa de membrana citoplasmática (10x); C) CD56 negativo (40x); D) p63 con positividad nuclear (40x).

Figura 1. Carcinoma papilar de variedad clásica



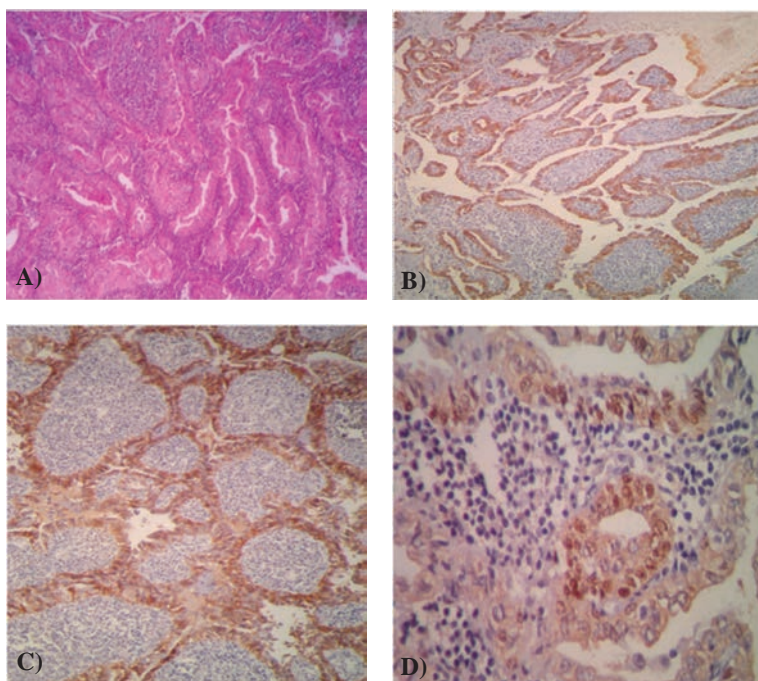
A) Coloración hematoxilina eosina (40x); B) CK19 que muestra positividad fuerte de membrana citoplasmática (40x); C) CD56 negativo (40x).

Figura 2. Carcinoma papilar de variedad folicular



A) Coloración de hematoxilina eosina (10x); B) CK19 negativa (10x); C) CD56 positividad fuerte en la membrana citoplasmática (10x).

Figura 3. Nódulo hiperplásico con arquitectura papilar florida

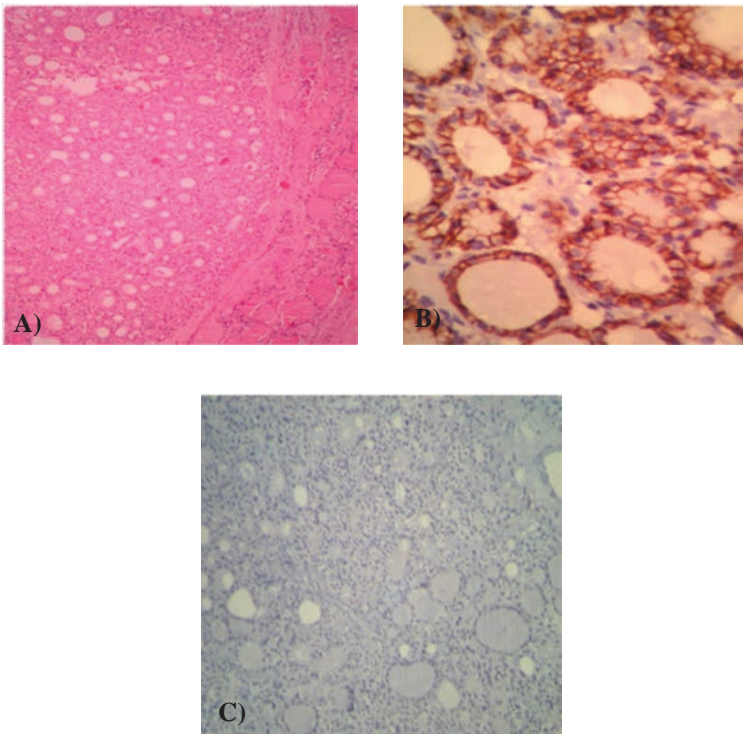


A) Hematoxilina eosina (10x); B) CK19 positiva fuerte en la membrana citoplasmática (10x); C) CD56 positivo fuerte en membrana citoplasmática (10x); D) P63 positivo a nivel nuclear (40x).

Figura 4. Carcinoma papilar de variedad Warthin-like

Solo el 64 % de todos los CP mostraron positividad focal y selectiva nuclear con p63 (figuras 1 y 4). De los 31 casos de patología tiroidea no CP, 11 correspondían a adenomas foliculares; 4, a adenoma de células de Hürthle; 2, a carcinoma foliculares; uno, a carcinoma de células de Hürthle mínimamente invasivo; 3, a tiroiditis de Hashimoto; uno, a tiroiditis linfocítica; 4, a bocio adenomatoso, y 5, a bocio coloide. Se excluyeron 6 casos del

análisis por ausencia total de inmunomarcación (tres adenomas foliculares, un adenoma de células de Hürthle, un caso de tiroiditis linfocítica y un carcinoma folicular). De los 25 casos restantes, el 100 % mostró positividad fuerte y difusa de la membrana citoplasmática (sin importar el subtipo de patología) con CD56 y negatividad con CK19 (figura 5). Solo uno de los 25 casos mostró positividad con p63 (tiroiditis de Hashimoto).



A) Hematoxilina eosina (10x); B) CD56 positivo intenso en la membrana citoplasmática (40x); C) CK19 negativo (10x).

Figura 5. Adenoma folicular

El tejido tiroideo normal evidenció positividad para CD56, aunque en menor intensidad que en las entidades patológicas, y negatividad con CK19 y p63. Se encontraron células CK19 positivas en la periferia de algunos adenomas foliulares, localizadas en la periferia de la lesión, justo por debajo de la cápsula —hallazgos previamente descritos en la literatura sobre el tema—.

Discusión

La valoración morfológica de las lesiones tiroideas mediante hematoxilina y eosina continúa siendo la mejor herramienta diagnóstica; sin embargo, algunas veces los cambios típicos descritos para el CP no son del todo claros y pueden ser controversiales al ser observados por diferentes patólogos expertos, y ello puede traducirse en diagnósticos equivocados y tratamientos inadecuados. Se han descrito algunos marcadores de inmunohistoquímica útiles para el diagnóstico de CP. Los resultados de este estudio fueron consistentes con lo reportado en la literatura acerca del uso de CK 19 y CD56, dos inmunomarcadores utilizados en lesiones tiroideas, útiles en aquellos casos en los que se tengan dudas con la sola interpretación morfológica. Estos deben evaluarse en conjunto con las imágenes diagnósticas y el contexto clínico del paciente. El p63 no mostró resultados contribuyentes.

La CK19 mostró positividad en el 100 % de las variantes del CP evaluadas, y llama la atención que en la variante Warthin-like tanto la CK 19 como el CD56 fueron positivos. Hasta el momento ninguno de los artículos encontrados menciona un perfil de inmunomarcación especial para este tipo de lesión. El 100 % de las lesiones benignas o no CP fueron negativas para este marcador.

El CD56 fue claramente positivo en la totalidad de las lesiones benignas. Evidenció, de igual manera, marcación en el tejido tiroideo adyacente sano, aunque con menor intensidad. En el grupo de los CP fue positivo en la variante Warthin-like, y negativo en el 88 % de las demás variantes. Solo el 64 % de los CP mostró positividad con P63.

Conclusión

La CK19 y la CD56 mostraron un perfil de inmunomarcación consistente con lo documentado en diferentes estudios: positividad fuerte de la primera y negatividad de la segunda en CP. El uso de estos dos marcadores puede ser útil para determinar si una lesión corresponde a CP en los casos en los cuales los hallazgos de la hematoxilina eosina no son concluyentes. El perfil de marcación encontrado en la variante Warthin-like, no descrito hasta este momento, deja las puertas abiertas para una mejor aproximación de marcación para este tipo de lesión.

Agradecimientos

A las directivas del Hospital Universitario de San Ignacio, en cabeza de su director, Julio César Castellanos R., por el apoyo económico recibido para los estudios de inmunohistoquímica.

Referencias

1. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Globocan 2008: cancer incidence and mortality worldwide in 2008 [internet]. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr/>.
2. DeLellis RA, Lloyd RV, Heits PU, Eng C, editors. World Health Organization Classification of Tumours: pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004.
3. El Demellawy DE, Nasr A, Alowami S. Application of CD56, P63 and CK19 immunohistochemistry in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid. *Diagn Pathol*. 2008;3:5.
4. Asa SL, Cheung CC. The mind's eye. *Am J Clin Pathol*. 2001;16: 635-6.
5. Chan JKC. Strict criteria should be applied in the diagnosis of encapsulated follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2002;117:16-8.
6. Baloch ZW, LiVolsi VA. Follicular-patterned lesions of the thyroid :the bane of the pathologist. *Am J Clin Pathol*. 2002;117:143-50.
7. Lloyd RV, Erickson LA, Casey MB et al. Observer variation in the diagnosis of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:1336-40.
8. Hirokawa M, Carney JA, Goellner JR et al. Observer variation of encapsulated follicular lesions of the thyroid gland. *Am J Surg Pathol*. 2001;26(11):1508-14.
9. Rosai J, Kuhn E, Carcangiu ML. Pitfalls in thyroid tumour pathology. *Histopathol*. 2006;49:107-20.
10. Perez-Montiel MD, Suster S. The spectrum of histologic changes in thyroid hyperplasia: a clinicopathologic study of 300 cases. *Hum Pathol*. 2008;39:1080-7.
11. Cheung CC, Ezzat S, Freeman J, Rosen IB, Asa SL. Immunohistochemical diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2001;14(4):338-42.
12. Fisher S, Asa SL. Application of immunohistochemistry to thyroid neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:359-70.
13. Bartolazzi A, Gasbarri A, Papotti M, Bus-solati G, Lucante T et al. Application of an immunodiagnostic method for improving preoperative diagnosis of nodular thyroid lesions. *Lancet*. 2001;357:1644-50.
14. Rezk S, Khan A. Role of immunohistochemistry in the diagnosis and progression of follicular epithelium-derived thyroid carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2005;13(3):256-61.
15. Choi YL, Kim MK, Suh JW, Han J et al. Immunoexpression of HBME-1, high molecular weight cytokeratin, cytokeratin 19, thyroid transcription factor-1, and E-cadherin in thyroid carcinomas. *J Korean Med Sci*. 2005;20:853-9.
16. Lam KY, Lui MC, Lo CY. Cytokeratin expression profiles in thyroid carcinomas. *Eur J Surg Oncol*. 2001;27:631-5.
17. Baloch ZW, Abraham S, Roberts S, Livolsi VA. Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemi-

- cal study and its diagnostic utility. *Hum Pathol.* 1999;30(10):1166-70.
18. Sahoo S, Hoda SA, Rosai J, DeLellis RA. Cytokeratin 19 immunoreactivity in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma: a note of caution. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:696-702.
 19. Zeromski J, Bagnasco M, Paolieri F, Dworacki G. Expression of CD56 (NKH-1) differentiation antigen in human thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol.* 1992;89:474-8.
 20. Cavallaro U, Niedermeyer J, Fuxa M, Christofori G. N-CAM modulates tumor-cell adhesion to matrix by inducing FGF-receptor signaling. *Nature Cell Biol.* 2001;3:650-7.
 21. Prag S, Lepekhn EA, Kolkova K, Hartmann-Petersen, Kawa A, Walmod PS, Belman V, Gallagher HC. NCAM regulates cell motility. *J Cell Scienc.* 2002;115:283-92.
 22. Levrero M, De Laurenzi V, Costanzo A, Sabatini S, Gong J, Wang JYJ, Mellino G. The p53/p63/p73 family of transcription factors: overlapping and distinct functions. *J Cell Sci.* 2000;113:1661-70.
 23. Preto A, Reis-Filho JS, Ricardo S, Soares P. P63 expression in papillary and anaplastic carcinomas of the thyroid gland: lack of an oncogenetic role in tumorigenesis and progression. *Pathol Res Pract.* 2002;198:449-54.
 24. Baloch ZW, LiVolsi VA. Warthin-like papillary carcinoma of the thyroid. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:1192-5.
 25. Urano M, Abe M, Kuroda M et al. Warthin-like tumor variant of papillary thyroid carcinoma: Case report and literature review. *Pathol Interl.* 2001;51:707-12.
 26. Kim H, Myssiorek D, Heller K, Zahur-ullah F, Bhuiya T. Warthin-like tumor of the thyroid gland: An uncommon variant of papillary thyroid cancer. *Ear, Nose Throat J.* 2006;85(1):56-9.

Correspondencia

Luis Fernando Jaramillo
Departamento de Patología
Pontificia Universidad Javeriana
Bogota, Colombia
luis.jaramillo@javeriana.edu.co