

# CLASIFICACIÓN PATOLÓGICA DE TUMORES PULMONARES. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS, INMUNOCITOQUÍMICAS Y MOLECULARES

F. Javier Montoro Zulueta, Isabel Esteban Rodríguez, Raúl Moreno Zabaleta

## RESUMEN

El diagnóstico del cáncer de pulmón se basa en la clasificación patológica de la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1967. La edición vigente actualmente es la de 2004, año en que se revisó por última vez. Recientemente, la *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC), *American Thoracic Society* (ATS) y la *European Respiratory Society* (ERS), han propuesto una nueva clasificación para el adenocarcinoma publicada en 2011. En la misma se incluye por primera vez una clasificación para el diagnóstico basado en muestras pequeñas no quirúrgicas aplicable a todos los tumores, no solo a los adenocarcinomas. En los últimos años, avances importantes en el tratamiento del carcinoma de célula no pequeña han convertido en crucial la diferenciación entre adenocarcinoma, carcinoma de célula escamosa y otros tipos histológicos. Al presentarse la enfermedad en una mayoría de casos en fase avanzada irreseccable, con mucha frecuencia esta diferenciación se debe realizar utilizando biopsias pequeñas y muestras citológicas, con las dificultades que ello supone, lo que ha obligado a un esfuerzo por desarrollar técnicas de apoyo al análisis morfológico tradicional, especialmente la inmunohistoquímica (IHQ). Además, en un mismo tipo tumoral, se han detectado alteraciones genéticas con importantes implicaciones terapéuticas, con lo que no sólo ha cobrado importancia diferenciar el tipo de carcinoma de célula no pequeña, si no también realizar el análisis genético del tumor. En el presente capítulo se revisa la clasificación patológica de la OMS de 2004 y la

de la IASLC, ATS y ERS de 2011, con especial énfasis en los avances que ayudan a diferenciar los tumores, y en el análisis genético con implicaciones clínicas. Se incluye la clasificación para el diagnóstico realizado con biopsias pequeñas y muestras citológicas.

## INTRODUCCIÓN

El diagnóstico del cáncer de pulmón se basa en la clasificación patológica de la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1967, año en que se publica la primera edición<sup>(1)</sup>. La clasificación se revisó en el año 1981, 1999 y 2004, siendo esta última la actualmente en vigor<sup>(2-4)</sup>. Durante estas décadas, la diferenciación entre el carcinoma de célula pequeña y el resto era el objetivo más importante al identificar pacientes a con pronóstico y manejo completamente diferentes. Las implicaciones clínicas de precisar el tipo de carcinoma de célula no pequeña eran menores. En los últimos años, avances importantes en el tratamiento del carcinoma de célula no pequeña han convertido en crucial la diferenciación entre adenocarcinoma, carcinoma de célula escamosa y otros tipos histológicos<sup>(5-9)</sup>. Al presentarse la enfermedad en una mayoría de casos en fase avanzada irreseccable, con mucha frecuencia esta diferenciación se debe realizar utilizando biopsias pequeñas y muestras citológicas, con las dificultades que ello supone, lo que ha obligado a un esfuerzo por desarrollar técnicas de apoyo al análisis morfológico tradicional, especialmente la inmunohistoquímica<sup>(10)</sup>. Además, en un mismo tipo tumoral, se han detectado alteraciones genéticas con importantes

implicaciones terapéuticas, con lo que no sólo ha cobrado importancia diferenciar el tipo de carcinoma de célula no pequeña, sino también realizar el análisis genético del tumor<sup>(11-16)</sup>.

### CLASIFICACIÓN DE TUMORES DE LA OMS (2004): CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, INMUNOCITOQUÍMICAS Y MOLECULARES

La tabla 1 recoge la clasificación de tumores de la OMS vigente actualmente<sup>(4)</sup>. Se repasan a continuación las características de los 4 tipos principales que agrupan la mayoría de los casos de cáncer de pulmón.

#### Carcinoma de célula escamosa

Las características citológicas de las células escamosas tumorales son un tamaño grande con núcleos centrales hiper cromáticos, uno o más nucléolos pequeños y un citoplasma abundante. Generalmente se presentan aisladas y pueden tener formas abigarradas. También se pueden presentar en agredados cohesionados. En tumores bien diferenciados se puede identificar un citoplasma queratinizado que aparece naranja con la tinción de Papanicolau. Histopatológicamente el carcinoma de célula escamosa se caracteriza por mostrar queratinización, formación de perlas y/o puentes intercelulares. El grado de diferenciación condiciona la presencia de los mismos, siendo prominentes en los tumores bien diferenciados y focales en los poco diferenciados. Se reconocen cuatro variantes:

1. *Papilar*: el tumor crece con un patrón papilar, con frecuencia es endobronquial exofítico; su diferenciación del papiloma puede ser difícil si no se identifica claramente invasión del estroma.
2. *De célula clara*: predominan o se compone en su totalidad de células claras.
3. *De célula pequeña*: se trata de un carcinoma de célula escamosa con células pequeñas y diferenciación escamosa focal.
4. *Basaloide*: se caracteriza porque los nidos están formados en su periferia por células más pequeñas con disposición en empalizada.

El carcinoma de célula escamosa se caracteriza inmunohistoquímicamente por expresar queratina de alto peso molecular (34βE12) y antígeno carcinoembrionario (CEA). Además, puede expresar, aunque en escaso porcentaje factor de transcripción tiroideo (TTF-1) y citoqueratina 7 (CK7). No obstante, el marcador más reconocido de carcinoma escamoso es el p63, aunque su especificidad es limitada, dado que lo pueden expresar hasta el 30 % de los adenocarcinomas. No obstante, su expresión difusa favorece fuertemente el carcinoma escamoso<sup>(17,18)</sup>. De la misma forma la expresión de citoqueratinas 5/6 (CK5/6), que suele coexistir con la anterior, sugiere este tipo histológico<sup>(14)</sup>.

Ninguna alteración molecular relevante se ha descrito en este tipo de tumor. En algunos estudios se menciona la presencia de mutación del gen del *epidermal growth factor receptor* (EGFR) pero en ninguno la frecuencia es mayor del 1 %<sup>(13)</sup>. Otros muestran resultados prometedores en aquellos con mutación del DDR2 y amplificación del *fibroblastic growth factor receptor 1* (FGFR1) que se han descrito en el 4 y 20 %, respectivamente<sup>(13,18)</sup>.

#### Carcinoma de célula pequeña

Se caracteriza por células con escaso citoplasma, moldeado nuclear, cromatina finamente granular y ausencia de nucléolo. La cromatina finamente granular distribuida de forma uniforme se ha denominado clásicamente como patrón en sal y pimienta. En las preparaciones citológicas, debido a la fragilidad de los núcleos, es frecuente el fenómeno de arrastre cromatínico, especialmente en muestras de aspirado y cepillado. El fondo suele contener cuerpos apoptóticos y detritus necróticos granulares. Histopatológicamente, al igual que otros tumores neuroendocrinos, puede adoptar varios patrones arquitectónicos como la formación de nidos, trabéculas, empalizadas y rosetas. Los bordes celulares no se identifican y los núcleos se amoldan. Las mitosis son numerosas. La variante combinada consiste en la mezcla con elementos de carcinoma de célula no pequeña incluyendo carcinoma escamoso, adenocarcinoma y carcinoma de célula grande.

**TABLA 1. Clasificación histológica de tumores pulmonares de la OMS (2004)**

**A. Tumores epiteliales malignos**

Carcinoma de célula escamosa  
 Papilar  
 De célula clara  
 De célula pequeña  
 Basaloide  
 Carcinoma de célula pequeña  
 Carcinoma de célula pequeña combinado  
 Adenocarcinoma  
 Mixto  
 Acinar  
 Papilar  
 Bronquioloalveolar  
 No mucinoso  
 Mucinoso  
 Mixto o indeterminado  
 Sólido con producción de mucina  
 Fetal  
 Carcinoma mucinoso (coloide)  
 Cistoadenocarcinoma mucinoso  
 De célula en anillo de sello  
 De célula clara  
 Carcinoma de célula grande  
 Carcinoma neuroendocrino de célula grande  
 Carcinoma neuroendocrino de célula grande combinado  
 Carcinoma basaloide  
 Carcinoma “linfoepitelioma-like”  
 Carcinoma de célula clara  
 Carcinoma de célula grande con fenotipo rabdoide  
 Carcinoma adenoescamoso  
 Carcinoma sarcomatoide  
 Pleomórfico  
 De célula fusiforme  
 De célula gigante  
 Carcinosarcoma  
 Blastoma pulmonar  
 Tumor carcinoide  
 Típico  
 Atípico  
 Tumores de glándula salival  
 Carcinoma mucoepidermoide  
 Carcinoma adenoide quístico  
 Carcinoma epitelial-mioepitelial  
 Lesiones preinvasivas  
 Carcinoma escamoso *in situ*

Hiperplasia adenomatosa atípica  
 Hiperplasia difusa idiopática de célula neuroendocrina pulmonar  
 Tumores mesenquimales  
 Hemangioendotelioma epitelioides  
 Angiosarcoma  
 Blastoma pleuropulmonar  
 Condroma  
 Tumor miofibroblástico difuso pulmonar  
 Linfangiomatosis pulmonar difusa  
 Tumor miofibroblástico inflamatorio  
 Linfangioleiomiomatosis  
 Sarcoma sinovial  
 Monofásico  
 Bifásico  
 Sarcoma de la arteria pulmonar  
 Sarcoma de la vena pulmonar

**B. Tumores epiteliales benignos**

Papilomas  
 Papiloma de célula escamosa  
 Exofítico  
 Invertido  
 Papiloma glandular  
 Papiloma mixto  
 Adenomas  
 Alveolar  
 Papilar  
 Adenomas de glándula salival  
 Adenoma de glándula mucosa  
 Adenoma pleomórfico  
 Otros  
 Cistoadenoma mucinoso

**C. Tumores linfoproliferativos**

Linfoma B tipo MALT de la zona marginal  
 Linfoma difuso de célula B grande  
 Granulomatosis linfomatoide  
 Histiocitosis de célula de Langerhans

**D. Otros tumores**

Hamartoma  
 Hemangioma esclerosante  
 Tumor de célula clara  
 Tumor de célula germinal  
 Teratoma maduro  
 Inmaduro  
 Otros tumores de célula germinal  
 Timoma intrapulmonar  
 Melanoma

**E. Tumores metastásicos**

Expresa marcadores neuroendocrinos como son la cromogranina, la sinaptofisina y CD56. Solo un 10% de los casos no expresan ninguno de los anteriores. Por otro lado, el 90% expresan TTF-1.

Se han identificado múltiples alteraciones genéticas moleculares (mutaciones en el p53, Ras, etc.) pero ninguna con relevancia clínica actualmente<sup>(18)</sup>. La mutación del EGFR es excepcional y únicamente se ha descrito en la variante combinada con un componente de adenocarcinoma<sup>(13)</sup>.

### Adenocarcinoma

En muestras citológicas, las células se disponen formando grupos tridimensionales, acinos, seudopapilas o papilas con centro fibrovascular. Los bordes de los grupos celulares son nítidos. El tamaño citoplasmático varía pero suele ser abundante. En la mayoría de las células es homogéneo o granular pero en otras es espumoso por la presencia de vacuolas intracitoplasmáticas. A veces hay una vacuola única citoplasmática que desplaza el núcleo a la periferia dando una morfología en anillo de sello. Los núcleos suelen ser únicos, excéntricos y de redondos a ovalados, con contorno liso, mínimas irregularidades nucleares y uno o varios nucléolos prominentes.

Histopatológicamente, el adenocarcinoma es un tumor heterogéneo que refleja los diferentes patrones de crecimiento que puede presentar. Estos son:

1. *Lepídico*: crecimiento de las células tumorales a lo largo de los espacios alveolares manteniendo la arquitectura, sin evidencia de invasión estromal, pleural o vascular.
2. *Acinar*: formación de acinos compuestos por células cúbicas o columnares que pueden producir mucina recordando a la glándula bronquial normal. Puede incluir células de Clara.
3. *Papilar*: papilas con eje conectivovascular y estructuras papilares secundarias y terciarias que reemplaza la arquitectura pulmonar subyacente. Puede darse invasión y necrosis. Las células pueden ser cúbicas

o columnares, mucinosas o no, y a veces simulan un carcinoma papilar de tiroides.

4. *Micropapilar*: papilas sin eje fibrovascular. En la clasificación de 2004 ya se mencionaba este patrón como una variedad del papilar con peor pronóstico según algunas evidencias no suficientemente sólidas como para reconocerlo entonces formalmente como un subtipo.
5. *Sólido*: nidos sólidos de células poligonales sin formación de acinos, papilas ni túbulos, con presencia de mucina.

La clasificación de la OMS de 2004 incluyó un subtipo denominado adenocarcinoma mixto que englobaba el 80-90% de los tumores, con unas características clínicas y patológicas muy heterogéneas. También incluía un subtipo denominado bronquioloalveolar con un patrón de crecimiento lepidico como característica principal en el que se incluían también tumores con características y pronóstico muy variables, sin discriminar la presencia de invasión u otros factores biológicos<sup>(4)</sup>. Desde 2004 el conocimiento acerca de las características clínicas, radiológicas y patológicas, incluyendo rasgos moleculares, se ha desarrollado significativamente, obligando a mejorar la caracterización de los tumores. Como consecuencia, recientemente la IASLC, ATS y ERS han desarrollado una nueva clasificación para el adenocarcinoma publicada en 2011 (Tabla 2)<sup>(11)</sup>. La nueva clasificación mantiene la continuidad y progresividad desde la lesión preinvasiva a la invasiva, clasificando los tumores en función del grado de invasión, y subclasificándolos en función del patrón de crecimiento. De esta forma se consigue una mejor correlación clínico-patológica y predicción pronóstica. Una consecuencia reseñable es la desaparición del término bronquioloalveolar que ha dado lugar a múltiples confusiones al agrupar tumores con un patrón de crecimiento lepidico pero diferentes grados de invasividad.

Se describen a continuación las características principales de los tipos incluidos en la nueva clasificación:

**TABLA 2. Clasificación de la IASLC, ATS y ERS del adenocarcinoma pulmonar en piezas de resección (2011)**

**Lesiones preinvasivas**

- Hiperplasia adenomatosa atípica
- Adenocarcinoma *in situ*
  - No mucinoso
  - Mucinoso
  - Mixto

**Adenocarcinoma mínimamente invasivo**

- No mucinoso
- Mucinoso
- Mixto

**Adenocarcinoma invasivo**

- De predominio lepidico
- De predominio acinar
- De predominio papilar
- De predominio micropapilar
- De predominio sólido con producción de mucina

**Variantes del adenocarcinoma invasivo**

- Adenocarcinoma invasivo mucinoso
- Coloide
- Fetal
- Entérico

*IASLC*: International Association for the Study of Lung Cancer; *ATS*: American Thoracic Society; *ERS*: European Respiratory Society.

1. *Lesiones preinvasivas*:
  - a. Hiperplasia adenomatosa atípica: proliferación local, pequeña (menor o igual a 0,5 cm) de neumocitos tipo II y/o células de Clara alineadas a lo largo del tabique alveolar y, a veces, del bronquiolo respiratorio, con un espectro variable de atipia celular.
  - b. Adenocarcinoma *in situ* (AIS): es una de las lesiones que se clasificaría como adenocarcinoma bronquioloalveolar usando la clasificación de 2004. Se caracteriza por el crecimiento lepidico puro sin invasión estromal, ni pleural ni vascular y, por defini-

ción, es menor o igual a 3 cm. Se subdivide en mucinoso y no mucinoso, pero todos son virtualmente no mucinosos. Múltiples estudios observacionales de casos reseca- dos documentan una supervivencia libre de enfermedad del 100%<sup>(19-21)</sup>.

2. *Adenocarcinoma mínimamente invasivo* (AMI): adenocarcinoma menor o igual a 3 cm con un patrón de crecimiento lepidico y al menos un foco de invasión menor o igual a 5 mm. Suele ser no mucinoso. La invasión se define como presencia de: a) un patrón de crecimiento diferente al lepidico (acinar, papilar, micropapilar y/o sólido); o b) células tumorales invadiendo el estroma fibrovascular. El AMI se excluye si hay invasión vascular, linfática o pleural, y si existe necrosis. Los casos reseca- dos muestran también un pronóstico muy favorable cercano al 100% de supervivencia libre de enfermedad<sup>(22,23)</sup>. Tanto el AIS como el AMI solo pueden diagnosticarse sobre el estudio completo del tumor reseca- do y la seguridad de que su tamaño no excede los 3 cm. Una supervivencia de 100% en tumores con las mismas características histológicas pero un tamaño superior a 3 cm no se ha validado, por lo que en estos casos la recomen- dación es clasificarlos como *adenocarcinoma de predominio lepidico, posible AIS o AMI*.
3. *Adenocarcinoma invasivo* (AI): en años recientes, varios grupos independientes han venido clasificando el adenocarcinoma de acuerdo al patrón de crecimiento predomi- nante<sup>(24,25)</sup>. Este enfoque proporciona una mejor caracterización del denominado en la clasificación de 2004 adenocarcinoma mixto. La recomendación actual es evaluar los tumores semicuantitativamente y elegir el patrón predominante para clasificarlo. El porcentaje de los otros patrones presen- tes debe también recogerse y especificarse para permitir la comparación. Por tanto, según el patrón predominante, el AI se subclasifica en:
  - a. De predominio lepidico: se diferencia del AMI por la presencia de al menos

- un foco de invasión mayor de 5 mm (definida como la presencia de: 1) un patrón de crecimiento diferente al lepidico (acinar, papilar, micropapilar y/o sólido); 2) células tumorales en el estroma fibrovascular) o la presencia de necrosis y/o invasión vascular, linfática o pleural. Trabajos recientes demuestran que el predominio lepidico se asocia a mejor pronóstico<sup>(20,22,25,26)</sup>.
- b. De predominio acinar.
  - c. De predominio papilar: algunas observaciones reflejan que su comportamiento es diferente, implicando un peor pronóstico<sup>(27)</sup>.
  - d. De predominio micropapilar: evidencias posteriores a la clasificación de 2004 confirman que el patrón de crecimiento micropapilar implica un pronóstico desfavorable, incluso frente al papilar, motivo por el que se ha incluido como un subtipo independiente<sup>(25,28,29)</sup>.
  - e. De predominio sólido: presenta como componente mayoritario nidos sólidos de células poligonales sin un patrón de crecimiento reconocible (lepidico, acinar, papilar, o micropapilar). Si el tumor es 100% sólido, se debe detectar mucina intracelular en al menos 5 células en 1 de cada 2 campos, confirmándose por tinción histoquímica para mucina. De esta forma se diferencia del carcinoma de célula escamosa y del carcinoma de célula grande que pueden presentar esporádicamente células con mucina.
4. *Variantes*: la nueva clasificación incluye varias variantes nuevas y desaparecen algunas de las incluidas en 2004.
    - a. Adenocarcinoma invasivo mucinoso: existe actualmente evidencia consistente de que el denominado en la clasificación de 2004 adenocarcinoma bronquioloalveolar mucinoso presenta características clínicas, radiológicas, patológicas y genéticas diferentes a las del no mucinoso. Por ello, en la clasificación de 2011 se ha separado del resto de tumores con crecimiento lepidico (AIS y AMI no mucinosos, y AI de predominio lepidico) para clasificarlo como una variante independiente. Histológicamente se caracteriza por células cilíndricas o columnares con abundante mucina intracelular. La atipia es mínima o está ausente, excepto cuando existe invasión del estroma en cuyo caso las células tumorales presentan menos citoplasma y mayor atipia. Puede presentar la misma mezcla heterogénea de patrones de crecimiento. Es decir, el adenocarcinoma bronquioloalveolar mucinoso se ha dividido en AIS mucinoso, AMI mucinoso y AI mucinoso en función de la extensión del crecimiento lepidico y el grado de invasión. Los dos primeros son tumores muy raros, siendo el AIS y el AMI no mucinosos en prácticamente todos los casos, como se ha mencionado previamente.
      - b. Adenocarcinoma coloide: presenta abundante mucina extracelular formando lagos mucosos que distienden los espacios alveolares.
      - c. Adenocarcinoma fetal: elementos glandulares con túbulos compuestos por células no ciliadas ricas en glucógeno que recuerdan a los túbulos pulmonares fetales.
      - d. Adenocarcinoma entérico: el adenocarcinoma pulmonar puede presentar diferenciación entérica y, cuando ésta se da en más del 50% del tumor, se debe clasificar como adenocarcinoma entérico. Se diferencia del adenocarcinoma colorectal por presentar áreas con los otros patrones de crecimiento, especialmente el lepidico.
 

Inmunohistoquímicamente, el adenocarcinoma se caracteriza por la expresión de TTF-1 que ha resultado ser el marcador con mejor valor diagnóstico independientemente del tipo de muestra, incluso en caso de positividad también del p63<sup>(14,18)</sup>. Suele expresar también CK7 y, en menor medida, CK20 y otros marcadores epiteliales (AE1/AE3, CEA). La napsina A también es un marcador útil. A

pesar de su baja sensibilidad, su especificidad para adenocarcinoma es alta al ser negativo en todos los carcinomas escamosos y en los neuroendocrinos de célula pequeña y grande<sup>(14)</sup>.

Actualmente se conocen varias alteraciones moleculares relevantes con implicaciones en la práctica clínica<sup>(12-14)</sup>. Se presentan con una frecuencia variable en el adenocarcinoma. La más importante es la mutación del gen del *epidermal growth factor receptor* (EGFR), que predice sensibilidad al tratamiento con inhibidores de la tirosina quinasa (erlotinib, gefitinib)<sup>(7-9)</sup>. Es más frecuente en mujeres, pacientes sin antecedentes de tabaquismo y en la raza asiática, en la que se ha descrito en un 20-60% de los casos frente a un 10-18% en las cohortes caucásicas. En el 90% de los casos se trata de una delección en el exón 19 (E746-A750del) o una mutación puntual en el 21 (L858R). Se han descrito también mutaciones que confieren resistencia a dichos fármacos, primaria o adquirida, siendo la más reconocida la T790M en el exón 20 que se ha descrito hasta en el 50% de los pacientes tratados con inhibidores de la tirosina quinasa y respuesta favorable inicial<sup>(15,16)</sup>.

La mutación del KRAS se presenta en algunas series hasta en el 40% de los adenocarcinomas y ha demostrado empeorar el pronóstico<sup>(14)</sup>. Terapias dirigidas a esta diana están en estudio<sup>(15)</sup>. Menos frecuentes son las translocaciones del EML4-ALK que se han descrito en el 1-4% de los casos, cuya importancia radica en predecir respuesta a crizotinib<sup>(29,31)</sup>.

Por último, mutaciones BRAF y HER2 se detectan en el 3 y 2%, respectivamente, y varios inhibidores de las mismas están en desarrollo<sup>(14)</sup>.

Es importante resaltar que, según la evidencia disponible, salvo muy raras excepciones, estas mutaciones son mutuamente excluyentes; es decir, la presencia de una de ellas excluye las demás.

### Carcinoma de célula grande

Se trata de un carcinoma de célula no pequeña sin las características citológicas y morfológicas de la diferenciación escamosa y de

la glandular. Sus células no presentan rasgos discriminatorios específicos. En la mayoría de las muestras se dan agregados celulares con bordes celulares poco definidos. Los núcleos varían de redondeados a extremadamente irregulares con una distribución irregular de la cromatina y nucléolos muy prominentes de morfología también irregular. Las células poligonales con una moderada cantidad de citoplasma forman sábanas o nidos. Al ser un tumor indiferenciado, tampoco presenta rasgos histopatológicos definitorios por lo que su diagnóstico es por exclusión tras descartar la presencia de componente escamoso, glandular o de carcinoma de célula pequeña. Se reconocen los siguientes subtipos:

1. *Carcinoma neuroendocrino de célula grande*: presenta características histológicas como nidos organoides, crecimiento trabecular, rosetas y patrones en empalizada que sugieren diferenciación neuroendocrina. Los nucléolos son prominentes y su presencia lo diferencia del carcinoma de célula pequeña. Son frecuentes extensas áreas de necrosis. La diferenciación neuroendocrina se confirma mediante estudios inmunohistoquímicos (cromogranina, sinaptofisina y CD56).
2. *Carcinoma neuroendocrino de célula grande combinado*: al igual que el carcinoma de célula pequeña, el carcinoma neuroendocrino de célula grande puede presentar componentes de carcinoma de célula escamosa, adenocarcinoma, carcinoma de célula gigante y/o carcinoma sarcomatoide.
3. *Carcinoma basaloide*: caracterizado por la empalizada periférica.
4. *Carcinoma linfoepitelioma-like*: caracterizado por una infiltración linfocítica intensa formada por linfocitos maduros mezclados con células plasmáticas, histiocitos y ocasionales neutrófilos o eosinófilos.
5. *Carcinoma de célula clara*: células grandes poligonales con citoplasma claro o espumoso que puede contener glucógeno.
6. *Carcinoma de célula grande con fenotipo rabdoide*: presenta al menos un 10% de células con glóbulos citoplasmáticos eosinófilos

constituidos por filamentos intermedios que pueden ser positivos para vimentina y citoqueratina.

La mutación del gen del EGFR se ha descrito también en este tipo histológico pero nunca en la variante con diferenciación neuroendocrina<sup>(15)</sup>.

### Carcinoma adenoescamoso

Presenta componentes de carcinoma de célula escamosa y de adenocarcinoma, representando cada uno al menos el 10 % del tumor.

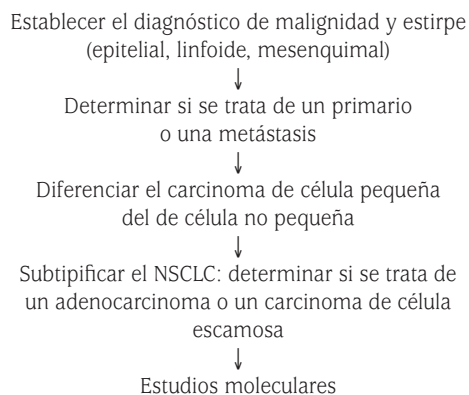
### CLASIFICACIÓN DE LA IASLC, ATS Y ERS PARA BIOPSIAS PEQUEÑAS Y MUESTRAS CITOLÓGICAS (2011)

La clasificación de la OMS se desarrolló desde su primera edición en 1967 sobre el estudio de piezas de resección y es únicamente aplicable al diagnóstico de tumores resecados. Sin embargo, solo en torno al 15-20% de los pacientes es sometido a una resección quirúrgica, de forma que el diagnóstico en la mayoría de los pacientes se basa en el estudio de muestras pequeñas y/o citológicas. En ninguna de las ediciones de la clasificación de la OMS se hace referencia al diagnóstico basado en dichas muestras. Dada la importancia actual de precisar al máximo el tipo histológico por las implicaciones terapéuticas, la IASLC, ATS y ERS incluyen en su clasificación para el adenocarcinoma de 2011, una clasificación para el diagnóstico basado en muestras no quirúrgicas, que se muestra en la tabla 3, y una lista de recomendaciones al respecto<sup>(11)</sup>. Entre ellas destaca que se debe evitar el término carcinoma de célula grande en el diagnóstico basado en este tipo de muestras, y limitarlo a piezas de resección cuyo estudio exhaustivo descarte un componente diferenciado. En el caso de que el estudio de la biopsia o citología muestre un tumor de célula no pequeña poco diferenciado se deben realizar estudios adicionales inmunocitoquímicos con la intención de caracterizar mejor el tumor. Si estos orientan al adenocarcinoma, el tumor se clasificará como *carcinoma de célula no pequeña, probable adenocarcinoma*. Si orientan a escamoso se clasificará

como *carcinoma de célula no pequeña, probable carcinoma de célula escamosa*. En el caso de que los estudios adicionales no permitan orientar el tumor se debe clasificar como *carcinoma de célula no pequeña sin otra especificación (non-small cell lung carcinoma not otherwise specified, NSCLC-NOS)*. El uso de las técnicas inmunocitoquímicas ha permitido reducir el uso de este último término en gran medida como demuestran estudios recientes<sup>(51-55)</sup>. Por otro lado, y como se ha mencionado anteriormente, el AIS y el AMI no se pueden diagnosticar sobre la base de muestras no quirúrgicas, y la presencia de crecimiento lepidico sin invasión en una muestra pequeña debe describirse simplemente como adenocarcinoma con patrón de crecimiento lepidico, añadiendo el comentario de que un componente invasivo no se puede descartar (Tabla 3).

### ESTRATEGIA DIAGNÓSTICA PATOLÓGICA

Un diagnóstico patológico preciso debe basarse en un método de trabajo ordenado que empiece por la información clínica relevante. El patólogo debe recibir como mínimo la siguiente información: historia de tabaquismo del paciente, tratamientos oncológicos previos, sospecha clínica de metástasis o de primario, y el origen anatómico de la muestra. Esta información permitirá planificar el proceso y anticipar la necesidad de estudios IHQ y moleculares y, de esta forma, preservar el tejido necesario para ello. Esquemáticamente, la estrategia se puede resumir en los siguientes pasos:





**TABLA 3. Clasificación de la IASLC, ATS y ERS de tumores pulmonares en biopsias pequeñas y muestras citológicas (2011)**

Clasificación de la OMS de 2004	Biopsias/citología (IASLC/ATS/ERS 2011)
<b>Adenocarcinoma</b>	<i>Rasgos morfológicos de adenocarcinoma presentes claramente:</i> adenocarcinoma, describir rasgos identificables presentes (incluyendo el patrón micropapilar no incluido en la clasificación de 2004) Comentario: si hay crecimiento lepidico puro, mencionar que un componente invasivo no se puede descartar en esta muestra pequeña
Mixto	
Acinar	
Papilar	
Sólido	
Carcinoma bronquioloalveolar (mucinoso)	Adenocarcinoma con patrón lepidico
Fetal	Adenocarcinoma con patrón fetal
Mucinoso (coloide)	Adenocarcinoma con patrón coloide
Anillo de sello	Adenocarcinoma con (describir el patrón presente) y rasgos de anillo de sello
De célula clara	Adenocarcinoma con (describir el patrón presente) y rasgos de célula clara
<i>Ningún homólogo en la OMS 2004 – la mayoría serán adenocarcinomas sólidos</i>	Patrones morfológicos de adenocarcinoma no presentes: carcinoma de célula no pequeña, a favor del adenocarcinoma
<b>Carcinoma de células escamosas</b>	<i>Rasgos morfológicos de célula escamosa presentes claramente:</i> carcinoma de célula escamosa
Papilar	
De célula clara	
De célula pequeña	
Basaloide	
<i>Ningún homólogo en la OMS 2004</i>	<i>Rasgos morfológicos de célula escamosa no presentes:</i> carcinoma de célula no pequeña, a favor de célula escamosa
<b>Carcinoma de célula pequeña</b>	Carcinoma de célula pequeña
<b>Carcinoma de célula grande</b>	Carcinoma de célula no pequeña, no especificado
Carcinoma neuroendocrino de célula grande (CNECG)	Carcinoma de célula no pequeña con morfología neuroendocrina (marcadores NE positivos), posible CNECG
Carcinoma de célula grande con morfología neuroendocrina (CCGMNE)	Carcinoma de célula no pequeña con morfología neuroendocrina (marcadores NE negativos) – comentario: este es un carcinoma de célula no pequeña en el que se sospecha CNECG pero las tinciones no demuestran diferenciación NE
<b>Carcinoma adenoescamoso</b>	<i>Rasgos morfológicos de célula escamosa y de adenocarcinoma presentes:</i> carcinoma de célula no pequeña con patrón de célula escamosa y adenocarcinoma – comentario: puede representar carcinoma adenoescamoso
<i>Ningún homólogo en la OMS 2004</i>	<i>Rasgos morfológicos de célula escamosa y de adenocarcinoma no presentes pero las tinciones apoyan un componente glandular y de adenocarcinoma:</i> carcinoma de célula no pequeña, no especificado (especificar el resultado de las tinciones y su interpretación) – comentario: puede representar carcinoma adenoescamoso
<b>Carcinoma sarcomatoide</b>	Carcinoma de célula no pequeña poco diferenciado con células fusiformes y/o gigantes (mencionar si adenocarcinoma o carcinoma de célula escamosa están presentes)

La técnica de inmunohistoquímica (si se aplica en tejido) o de inmunocitoquímica (si se aplica en citología) es un método para localizar antígenos específicos en las células basado en el reconocimiento antígeno-anticuerpo. Se usa un anticuerpo primario que se une al antígeno en estudio y un sistema de detección mediante unión directa al anticuerpo primario o con un anticuerpo secundario. Los marcadores que se seleccionan para el estudio de cada caso dependen del diagnóstico diferencial que se plantea según la morfología del tumor. Por ello es imprescindible la evaluación inicial del mismo con técnicas convencionales.

### **DIFERENCIACIÓN DEL CARCINOMA PRIMARIO Y LA METÁSTASIS**

No siempre es necesaria y únicamente se debe plantear cuando la sospecha clínica así lo indique o en el caso, poco frecuente, de que la morfología sugiera dicha posibilidad. La estrategia a seguir depende de ambos factores.

En el caso del carcinoma escamoso, la diferenciación con un origen metastásico es difícil. Este diagnóstico diferencial se plantea con mayor frecuencia con tumores de cabeza y cuello; en un 4,5-14 % de tumores de cabeza y cuello se plantea, y en un 30 % de estos por lesiones sincrónicas. Morfológicamente los tumores son indistinguibles y la utilidad de la IHQ es muy limitada. Únicamente la positividad de TTF-1 sugeriría un origen pulmonar pero lo expresan menos del 10 % de los carcinomas escamosos de origen pulmonar, por lo que su sensibilidad es muy baja. La diferenciación debe basarse en la mayoría de los casos en datos clínicos<sup>(56)</sup>.

La IHQ tampoco es útil en la diferenciación del origen de un carcinoma de célula pequeña. El TTF-1 se expresa en el 44-80 % de los carcinomas extrapulmonares y no hay otros marcadores válidos<sup>(18)</sup>. No obstante, este es un problema muy infrecuente y suele ser sencillo de resolver clínicamente.

El problema del origen se plantea con mayor frecuencia en caso de adenocarcinoma. En este caso se recomienda la utilización de

un panel de citoqueratinas (CK7 y CK20) para realizar una aproximación inicial y, posteriormente, estudiar distintos marcadores específicos de origen como TTF-1, tiroglobulina, *gross cystic disease fluid protein 15* (GCDFP-15) u otros según el esquema reflejado en la tabla 4. En caso de sospecha de origen mamario, es útil la detección de receptores de estrógenos que se expresan hasta en el 72 % de los casos de origen mamario frente a <5 % de los de origen pulmonar<sup>(56)</sup>. Trabajos recientes demuestran la utilidad de la napsina-A para confirmar el origen pulmonar primario<sup>(17,37,38)</sup>. En el caso del adenocarcinoma pulmonar con diferenciación entérica, el tumor tiene tendencia a expresar marcadores colónicos (CDX-2 y MUC3) aunque la mayoría siguen expresando TTF-1 y/o CK7, lo que permite diferenciarlo de la metástasis<sup>(56)</sup>.

### **DIFERENCIACIÓN ENTRE CARCINOMA DE CÉLULA PEQUEÑA Y NO PEQUEÑA**

En la mayoría de los casos, las características morfológicas en una tinción de HE adecuada son suficientes, tanto en biopsias como en muestras citológicas, siendo estas últimas en muchos casos más útiles al no presentar artefactos de arrastre. No obstante, el desacuerdo entre patólogos expertos se puede dar hasta en un 5-7 % de los casos<sup>(18)</sup>. Se puede demostrar la diferenciación neuroendocrina con IHQ (cromogranina, sinaptofisina, CD56) o con microscopía electrónica (gránulos neuroendocrinos de 100 nm diámetro en 2/3). Sin embargo, en el 10 % los marcadores neuroendocrinos son todos negativos, planteándose el diagnóstico diferencial con otros tumores de células redondas pequeñas como el linfoma, las variantes basaloideas del carcinoma de célula grande y del carcinoma escamoso, y la variante de célula pequeña del carcinoma escamoso, entre otros. Los marcadores más útiles en este contexto son las panqueratinas (AE1/AE3), que serán negativas en caso de linfoma, el LCA (antígeno leucocitario común) y el CD45 que se expresan por el linfoma, y citoqueratinas

**TABLA 4. Expresión diferencial de marcadores inmunohistoquímicos en la mayoría de tumores primarios y metastásicos del pulmón**

**CK 20+ y CK 7 +**

- Carcinoma urotelial: uroplaquina +, p63 +-, trombomodulina +-, CK 5 -/6 + (1/2)
- Adenocarcinoma de páncreas (2/3): CEA +, CA 19.9 +, MUC5-AC +, MUC-2-, CDX2 (variable)
- Carcinoma mucinoso de ovario: MUC5-AC +, MUC-2-, CDX2 (variable)
- Adenocarcinoma de vesícula biliar: trombomodulina +, CDX2 (variable)
- Adenocarcinoma gástrico (subconjunto)
- Colangiocarcinoma (subconjunto menor)

**CK 20 - y CK7 +**

- Adenocarcinoma endometrial: CEA-, vimentina +, RE +, RP +
- Adenocarcinoma endocervical: CEA +, vimentina-, RE-, RP-
- Carcinoma de mama: CEA +, RE +, RP +, GCDPF-15 +
- Adenocarcinoma seroso de ovario: RE y RP +, WT1 +, mesotelina +, CEA-
- Carcinoma de cél. pequeña de pulmón: TTF-1 +, marcadores neuroendocrinos (cromogranina, sinaptofisina, CD56) +, p63-
- Adenocarcinoma de pulmón: TTF-1 +, p63-, CEA +, CK5/6-
- Colangiocarcinoma: CEA +, CK19 +, MOC 31 +, HepPar1-, CDX2 variable
- Mesotelioma (2/3): calretinina +, WT-1 +, D2-40 +, trombomodulina +, CK5/6 +, TTF-1-, p63-, CEA-, Ber-EP4-, MOC-31-
- Carcinoma de tiroides: TTF-1 +, tiroglobulina +, CEA- (excepto ca medular). (El ca anaplásico puede ser negativo para TTF-1 y tiroglobulina)
- Otros: carcinoma escamoso de cérvix, tumores de gl. salivar, adenoca pancreático y gástrico (subgrupo), carcinoma urotelial (subgrupo)

**CK 20+ y CK 7-**

- Carcinoma de colon: CEA +, MUC-2 +, CDX2 +
- Carcinoma de Merkel: marcadores neuroendocrinos (cromogranina, sinaptofisina, CD56)
- Adenocarcinoma gástrico (subgrupo)

**CK 20- y CK 7-**

- Adenocarcinoma de próstata: PSA +, PAP +, CEA-, uroplaquina-, p63-, trombomodulina-, CK 5/6-
- Carcinoma escamoso: p63 +, trombomodulina +, CK 5-/6 +
- Carcinoma renal: vimentina +, marcados RCC +, CD10 +, CEA-
- Hepatocarcinoma: HepPar1 +, CD10 y pCEA + (patrón canalicular), CK19-, MOC 31-
- Carcinoma adrenal: vimentina +, calretinina +, Melan A +, Inhibina +, CEA
- Tumores de c. germinales no seminomatosos: PLAP +, EMA- (t. seno endodérmico: AFP +, Ca embrionario: CD30 +)
- Mesotelioma (1/3)

de alto peso (34βE12), que se expresan en los carcinomas de célula no pequeña. El antígeno Ki67 ayuda a diferenciar un carcinoma de célula pequeña (tumor neuroendocrino de

alto grado) de los carcinoides (bajo grado), sobre todo en casos en los que existe intenso artefacto de arrastre que puede dificultar la interpretación.

## SUBTIPIFICACIÓN DEL CARCINOMA DE CÉLULA NO PEQUEÑA

Entre un 10 a 40% de los tumores evaluados en muestras no quirúrgicas se clasifican tras la evaluación morfológica como carcinoma de célula no pequeña. Trabajos recientes han conseguido reducir esta proporción a menos del 5% usando técnicas IHQ<sup>(32-35)</sup>. Los marcadores más útiles para esta diferenciación son:

- TTF-1 (*thyroid transcription factor-1*): es positivo en el 75% de los adenocarcinomas (en menor proporción en los mucinosos y en los pobremente diferenciados). Por el contrario, solo lo expresan el 10% de los carcinomas escamosos.
- p63 (miembro de la familia de p53): lo expresan el 96% de los carcinomas escamosos y el 30% de los adenocarcinomas.
- Citoqueratina 7 (CK7): generalmente positivo en los adenocarcinomas y en el 20-30% de los carcinomas escamosos.
- Citoqueratina 5/6 (CK 5/6): suele ser positivo en el carcinoma escamoso.
- Napsina-A: se expresa en el 58% de los adenocarcinomas. A pesar de su baja sensibilidad tiene una excelente especificidad ya que no se expresa en los carcinomas escamosos ni en los carcinomas neuroendocrinos.

Por tanto, la expresión de TTF-1 por un carcinoma de célula no pequeña favorecería el adenocarcinoma (Fig. 1). La positividad del p63 sin expresión de TTF-1 favorecería el carcinoma escamoso (Fig. 2). Si la expresión de estos marcadores no es concluyente, se debe recurrir a otros como napsina-A o CK 5/6. En un trabajo reciente, Mukhopadhyay y Katzenstein utilizan un panel con TTF-1, p63, napsina A y CK5/6 para subclasificar un 75% de los carcinoma de célula no pequeña indiferenciados y proponen el algoritmo reflejado en la tabla 5<sup>(18,39)</sup>. Proponen que los tumores TTF-1 que expresen p63 focalmente se clasifiquen como adenocarcinomas. Una expresión más difusa de p63 sugeriría un carcinoma adenoescamoso. Otros autores coinciden con esta pauta diagnóstica<sup>(13)</sup>.

Habiéndose descrito en el carcinoma escamoso la mutación del EGFR solo excepcio-

nalmente, la presencia de esta se considera diagnóstica de adenocarcinoma<sup>(11)</sup>.

## ALGORITMO PARA EL MANEJO DE BIOPSIAS PEQUEÑAS Y MUESTRAS CITOLÓGICAS

La necesidad de realizar en muchos casos estudios adicionales a la evaluación morfológica tradicional obliga a planificar adecuadamente el manejo de la muestra de forma que se preserve tejido suficiente y en las condiciones apropiadas para realizarlos. El número de marcadores inmunohistoquímicos y alteraciones genéticas útiles ha crecido rápidamente y continuará haciéndolo en los próximos años, lo que convierte la gestión del tejido disponible en una cuestión fundamental.

El manejo de la muestra comienza por decidir el lugar de muestreo. Los resultados de trabajos iniciales que sugerían heterogeneidad entre el tumor primario y las metástasis respecto a la mutación del EGFR no se han confirmado<sup>(13)</sup>. Incluso se ha sugerido heterogeneidad intratumoral pero estudios recientes comparando el estado del EGFR en biopsias y en el tumor resecado no han revelado discrepancias<sup>(13,40)</sup>. Por todo ello, se considera actualmente que biopsias y muestras citológicas obtenidas tanto del tumor primario como de la metástasis son representativos del genotipo del tumor. No obstante, algunos autores argumentan que, siendo el tumor un proceso evolutivo, sería más apropiado muestrear la metástasis, especialmente si es metacrónica<sup>(39)</sup>. La IASLC, ATS y ERS recomiendan que la cuestión se discuta en cada caso en un equipo multidisciplinario que, antes de realizar ningún procedimiento, plantee qué estudios van a ser necesarios y qué localización permitirá obtener una muestra de tejido adecuada y suficiente para ellos<sup>(11)</sup>.

Otra cuestión importante es en qué casos se debe realizar el análisis del gen del EGFR. Existe consenso en que se debe determinar su estado en todos los casos de adenocarcinoma y carcinoma de célula no pequeña sin otra especificación (*NSCLC-NOS*)<sup>(11-15)</sup>.

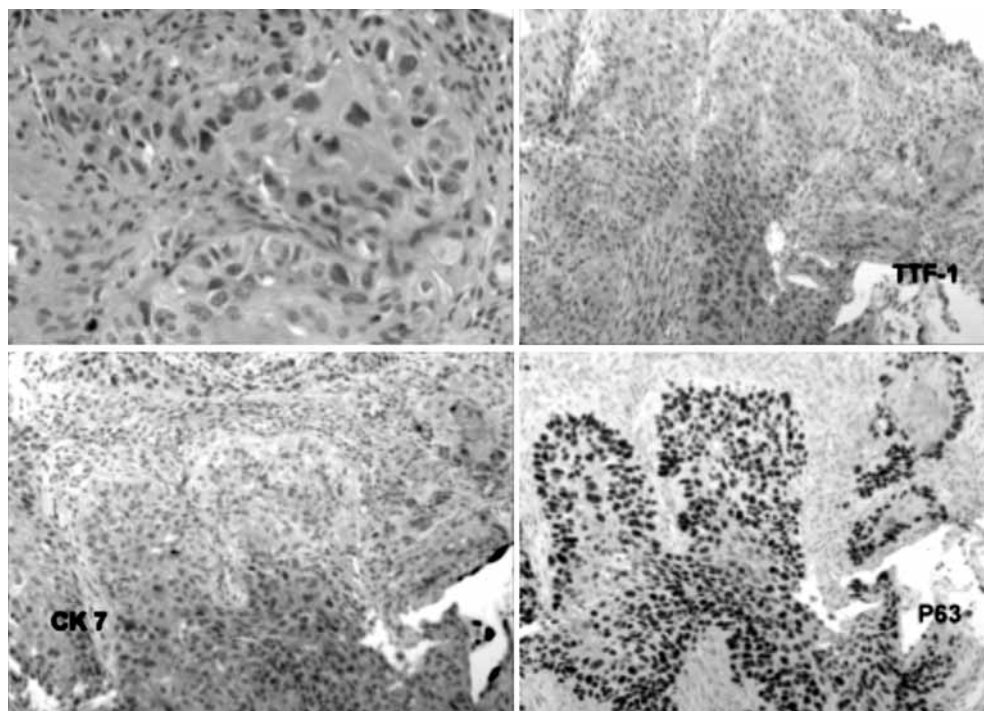


FIGURA 1. Carcinoma escamoso. Hematoxilina-eosina. TTF-1-, CK7-, p63 + difuso (ver en color en págs. finales).

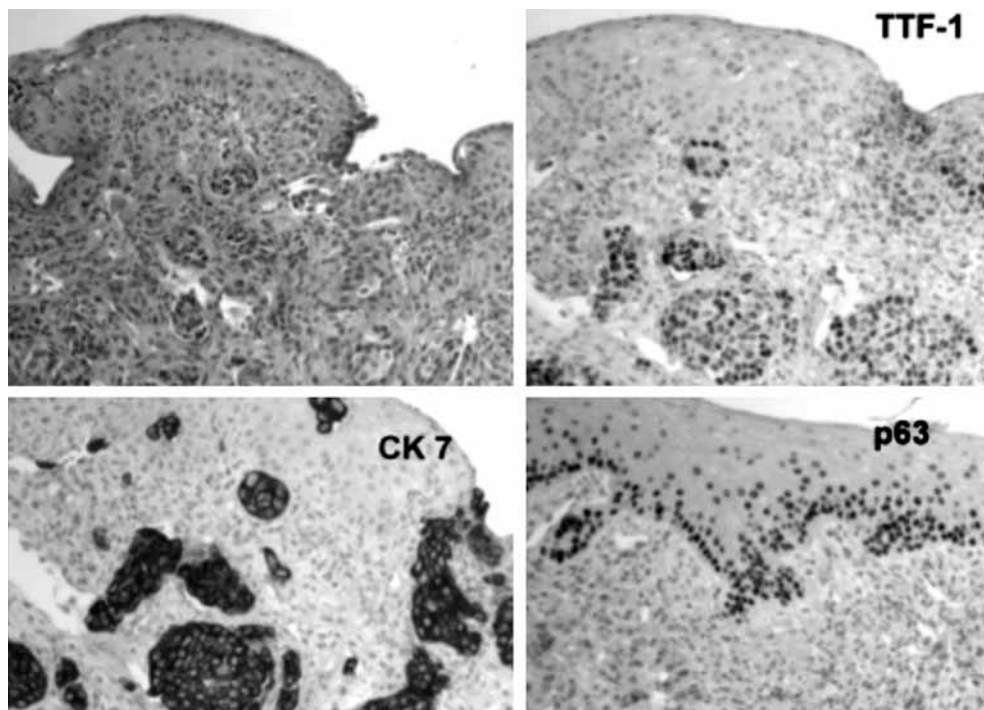
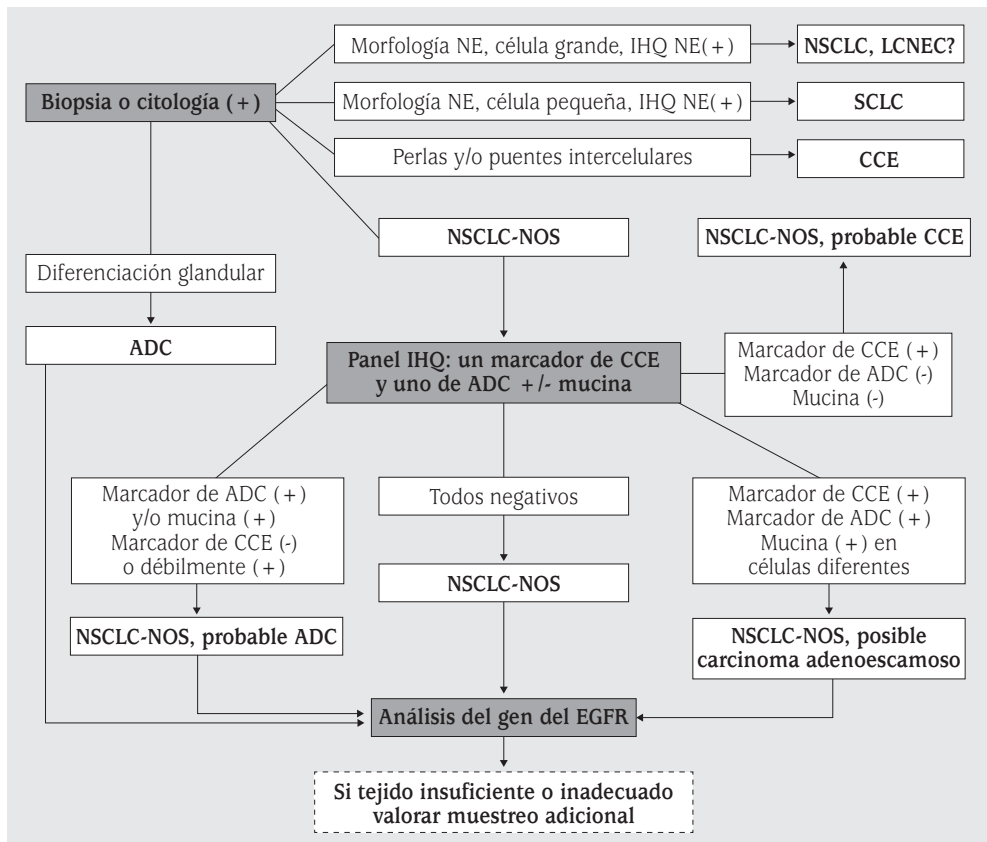


FIGURA 2. Adenocarcinoma. Hematoxilina-eosina. TTF-1 +, CK7 +, p63 + focal (ver en color en págs. finales).

**TABLA 5. Algoritmo para la subclasificación del carcinoma de célula no pequeña pobremente diferenciado utilizando marcadores inmunohistoquímicos en biopsias**

Marcadores de ADC (TTF-1 y napsina A)	Marcadores de CCE (p63 y CK5/6)	Diagnóstico
TTF-1 o napsina A o ambos (+)	Ambos (-)	ADC
TTF-1 o napsina A o ambos (+)	P63 (+), CK5/6 (-)	ADC
Ambos (-)	Ambos (+)	CCE
Ambos (-)	p63 (+) difuso, CK5/6 (-)	CCE
Ambos (-)	p63 (+) focal, CK5/6 (-)	NSCLC-NOS*
Ambos (-)	Ambos (-)	NSCLC-NOS*
TTF-1 y napsina A (+) en una población de células y p63 y CK5/6 (+) en una población diferente		CADE

\*Término alternativo: carcinoma de célula no pequeña pobremente diferenciado; revisar la morfología y considerar diagnósticos diferentes al carcinoma. ADC: adenocarcinoma; CCE: carcinoma de célula escamosa; NSCLC-NOS: non-small cell lung cancer not otherwise specified; CADE: carcinoma adenoescamoso. Adaptado de la referencia (39).



**FIGURA 3.** Algoritmo diagnóstico en biopsia y citología. NE: neuroendocrina; IHQ: inmunohistoquímica; NSCLC: non-small cell lung cancer; LCNEC: large cell neuroendocrine carcinoma; SCLC: small cell lung cancer; CCE: carcinoma de célula escamosa; NSCLC-NOS: non-small cell lung cancer not otherwise specified; ADC: adenocarcinoma.

Respecto a qué otros análisis genéticos realizar y en qué secuencia, no existe consenso actualmente. Horn y Pao recomendaron inicialmente la secuencia KRAS, EGFR y EML4-ALK<sup>(52)</sup>. Tanner et al recomiendan actualmente analizar simultáneamente el estado del KRAS y del EGFR<sup>(15)</sup>. La misma recomendación realiza un importante grupo de trabajo europeo<sup>(15)</sup>. Ambos grupos recomiendan estudiar la traslocación del ALK en caso de KRAS y EGFR nativos y, secuencialmente, otras alteraciones en caso de ausencia de traslocación (BRAF, HER2). No obstante, la IASLC, ATS y ERS reflejan en su documento acerca de la clasificación del adenocarcinoma que los datos disponibles sobre análisis moleculares más allá del estado del gen del EGFR son insuficientes como para realizar una recomendación al respecto. Por tanto, dichos análisis se deben limitar a los casos que puedan ser incluidos en ensayos clínicos con terapias dirigidas a estas dianas<sup>(11)</sup>. El documento de la IASLC, ATS y ERS incluye un algoritmo que se refleja en la figura 3.

## BIBLIOGRAFÍA

- World Health Organization. Histological typing of lung tumours. Geneva: WHO; 1967.
- World Health Organization. Histological typing of lung tumours. Geneva: WHO; 1981.
- Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambilla E, et al. Histological typing of lung and pleural tumours. 3<sup>rd</sup> ed. WHO international histological classification of tumours. Berlin: Springer; 1999.
- Gosney J, Travis WD. Pathology and genetics: tumours of the lung, pleura, thymus and heart. En: Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink H, Harris CC, eds. World Health Organization classification of tumours. Lyon, France: IARC Press; 2004. p. 76-7.
- Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 3543-51.
- Johnson DF, Fehrenbacher L, Novotny WF, et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2004; 22: 2184-91.
- Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefinitib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Eng J Med*. 2009; 361: 947-57.
- Rossell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Eng J Med*. 2009; 361: 958-67.
- Taus A, Vollmer I, Arriola E. Mutaciones de sensibilidad y resistencia del gen *epidermal growth factor receptor* (EGFR) en el cáncer de pulmón de célula no pequeña. *Arch Bronconeumol*. 2011; 47: 103-5.
- Travis WD, Rekhman N, Riley GJ, et al. Pathologic diagnosis of advanced lung cancer based on small biopsies and cytology. A paradigm shift. *J Thorac Oncol*. 2010; 5: 411-4.
- Travis WD, Brambilla E, Masayuki N, et al. IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thoracic Oncol*. 2011; 6: 244-85.
- Pirker R, Herth FJF, Kerr KM, et al. Consensus for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer. Results from a European workshop. *J Thorac Oncol*. 2010; 5: 1706-13.
- Thunnissen E, Kerr KM, Herth FJF, et al. The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group. *Lung Cancer*. (2011), doi: 10.1016/j.lungcan.2011.10.017.
- Kerr M. Personalized medicine for lung cancer: new challenges for pathology. *Histopathology* (2011), doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03854.x.
- Tanner NT, Pastis NJ, Sherman C, et al. The role of molecular analyses in the era of personalized therapy for advanced NSCLC. *Lung Cancer* (2011), doi: 10.1016/j.lungcan.2011.11.013.
- Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small cell lung cancer with mutated EGFR. *N Eng J Med*. 2010; 362: 2380-8.
- Stoll LM, Johnson MW, Gabrielson E, et al. The utility of napsin-A in the identification of primary and metastatic lung adenocarcinoma among cytologically poorly differentiated carcinomas. *Cancer Cytopathol*. 2010; 118: 441-9.
- Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol*. 2012; 25 (Suppl 1): S18-30. doi: 10.1038/modpathol.2011.150.

19. Watanabe S, Watanabe T, Arai K, et al. Results of wedge resection for focal bronchioloalveolar carcinoma showing pure ground-glass attenuation on computed tomography. *Ann Thorac Surg.* 2002; 73: 1071-5.
20. Vázquez M, Carter D, Brambilla E, et al. Solitary and multiple resected adenocarcinomas after CT screening for lung cancer: histopathologic features and their prognostic implications. *Lung Cancer.* 2009; 64: 148-54.
21. Koike T, Togashi K, Shirato T, et al. Limited resection for noninvasive bronchioloalveolar carcinoma diagnosed by intraoperative pathologic examination. *Ann Thorac Surg.* 2009; 88: 1106-11.
22. Borczuk AC, Qian F, Kazeros A, et al. Invasive size is an independent predictor of survival in pulmonary adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2009; 33: 462-9.
23. Yim J, Zhu LC, Chiriboga L, et al. Histologic features are important prognostic indicators in early stages lung adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2007; 20: 233-41.
24. Sica G, Yoshizawa A, Sima CS, et al. A grading system of lung adenocarcinomas based on histologic pattern is predictive of disease recurrence in stage I tumors. *Am J Surg Pathol.* 2010; 34: 1155-62.
25. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Prognostic significance of the proposed IASLC/ATS/ERS revised classification of lung adenocarcinoma in 514 stage I tumors. *Mod Pathol.* 2011; 24: 653-64.
26. Lin DM, Ma Y, Zheng S, et al. Prognostic value of bronchioloalveolar carcinoma component in lung adenocarcinoma. *Histol Histopathol.* 2006; 21: 627-32.
27. Silver SA, Askin FB. True papillary carcinoma of the lung: a distinct clinicopathologic entity. *Am J Surg Pathol.* 1997; 21: 43-51.
28. De Oliveira Duarte Achcar R, Nikiforova MN, Yousem SA. Micropapillary lung adenocarcinoma: EGFR, K-ras and BRAF mutational profile. *Am J Clin Pathol.* 2009; 131: 694-700.
29. Sánchez-Mora N, Presmanes MC, Monroy V, et al. Micropapillary lung adenocarcinoma: a distinctive histologic subtype with prognostic significance. *Hum Pathol.* 2008; 39: 324-30.
30. Mukhopadhyay S, Katzenstein A. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimen: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, Napsina A, p63 y CK 5/6. *Am J Surg Pathol.* 2011; 35: 15-25.
31. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small cell lung cancer. *N Eng J Med.* 2010; 363: 947-57.
32. Horn L, Pao W. EML4-ALK: honing in on a new target in non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 4232-5.
33. Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, et al. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010; 5: 442-7.
34. Nicholson AG, González D, Shah P, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and p63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol.* 2010; 5: 436-41.
35. Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol.* 2011; 24: 1348-59.
36. Righi L, Graziano P, Fornari A, et al. Immunohistochemical subtyping of non-small cell lung cancer not otherwise specified in fine-needle aspiration cytology. A retrospective study of 103 cases with surgical correlation. *Cancer.* 2011; 117: 3416-23.
37. Jardigar J. Immunohistochemical diagnosis of lung carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132: 384-96.
38. Ye J, Findeis-Hosey JJ, Yang Q, et al. Combination of napsin-A and TTF-1 immunohistochemistry helps in differentiating primary lung adenocarcinoma from metastatic carcinoma in the lung. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2011; 19: 313-7.
39. Mukhopadhyay S. Utility of small biopsies for diagnosis of lung nodules: doing more with less. *Mod Pathol.* 2012; 25 (Suppl 1): S43-57. doi: 10.1038/modpathol.2011.153.
40. Yousem SA. Role of molecular studies in the diagnosis of lung adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2012; 25 (Suppl 1): S11-7. doi: 10.1038/modpathol.2011.156.