

Libro Blanco **2015**
de la
Anatomía Patológica en España

Libro Blanco **2015**
de la
Anatomía Patológica en España

Recomendaciones de los Clubes
para el
Diagnóstico Anatomopatológico

Coordina:
Isabel Guerra Merino

1ª edición (1997)
ISBN: 84-699-3297-7
D.L.: MA-40/2009

Suplemento (1999)
D.L.: NA-2.749/2009

2ª edición (2009)
ISBN: 13:978-84-692-1562-3
D.L.: 2.059/2009

Suplemento (2011)
D.L.: 1.883/2011

3ª edición (2013)
D.L.: M-14.463/2013

Edición con carácter no venal
© Sociedad Española de Anatomía Patológica
D.L.: VI-319/2015
Gráficas Dosbi, S. L.

Impreso en España

*La práctica debería ser producto de la reflexión, no al contrario.
(Hermann Hesse)*

Junta Directiva de la Sociedad Española de Anatomía Patológica

Presidente

Miguel Ángel Piris Pinilla

Presidente electo

Enrique de Álava Casado

Presidente saliente

Ricardo González Cámpora

Tesorero

Josep Lloreta Trull

Secretaria

Purificación Domínguez Franjo

Representante MIR

Laia Serrano Munné

Vocal de Docencia

Javier Pardo Mindán

Vocal de Formación Continuada

Juan Fernando García García

Vocal de Comité Científico

Enrique de Álava Casado

Vocal de Programa del Control de Calidad

Antonio Martínez Pozo

Vocal de Comunicación y Proyección Social

Marcial García Rojo

Vocal de Ejercicio Libre

Agustín Acevedo

Vocal del Libro Blanco

Isabel Guerra Merino

Vocal de Clubes y Registros

Santiago Nieto Llanos

Vocal de Técnicos en Anatomía Patológica

José M^a Corominas

Vocal de la Edición de Revista Española de Patología

Emilio Mayayo

Presidentes de las asociaciones territoriales de la S.E.A.P.

ANDALUCÍA

Diego Martínez Parra

ARAGÓN

Ramiro Álvarez Alegret

ASTURIAS

Francisco Domínguez Iglesias

BALEARES

Cristina Gómez Bellvert

CANARIAS

Willy Pinto Morales

CANTABRIA

M^a Carmen González Vela

CASTILLA-LA MANCHA

Rubén Cuesta Domínguez

CASTILLA Y LEÓN

José Santos Salas Valián

CATALUÑA

Eva Musulén Palet

EXTREMADURA

Antonio Félix Conde Martín

GALICIA

M^a Del Carmen Penin Corderi

MADRID

Julián Sanz Ortega

MURCIA

Enrique Poblet Martínez

NAVARRA Y LA RIOJA

Ángel Panizo Santos

PAÍS VASCO

Carla Valentí Ponsa

VALENCIA

Antonio Ferrández Izquierdo

Índice

PRESENTACIÓN	15
<i>Miguel Ángel Piris Pinilla</i>	
INTRODUCCIÓN	17
<i>Isabel Guerra Merino</i>	
1. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE AUTOPSIAS	19
<i>"Guía de autopsias"</i>	
<i>Félix Arce, Fidel Fernández, Iván Fernández-Vega, Ignasi Galtés, Isabel Guerra, Joaquín Lucena, Marta Mayorga, Rita María Regojo, M^a Paz Suárez, Nuria Terán</i>	
<ul style="list-style-type: none">• Introducción• Tipos de autopsia: autopsia clínica y autopsia médico-legal• Indicaciones de la autopsia• Requisitos para realizar una autopsia clínica• Procedimientos normalizados de trabajo: autopsia general, autopsia cardiovascular, prionopatías, proyección neuropatológica, banco de tejidos neurológicos, autopsia fetal y perinatal• Informe anatomopatológico de autopsia	
2. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE DERMATOPATOLOGÍA	53
<i>"Guías de práctica clínica en Dermatopatología"</i>	
<i>Angel Santos-Briz, Juan José Ríos Martín, Maite Fernandez Figueras, Maria Dolores Lozano, José Luis Rodríguez Peralto</i>	
<ul style="list-style-type: none">• Introducción• Informe del Melanoma Cutáneo• Recomendaciones para la determinación de biomarcadores en melanoma metastásico.	
3. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE INFECCIOSAS	69
<i>"Requisitos básicos para los estudios de patología infecciosa"</i>	
<i>Emilio Mayayo Artal, Cristian Perna Monroy</i>	
4. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE LINFOMAS	79
<i>"Recomendaciones para el estudio histopatológico, inmunohistoquímico, citogenético y molecular e informe diagnóstico de los procesos neoplásicos linfoides. Consenso SEAP-SEHH-GOTEL"</i>	
<i>Santiago Montes Moreno, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Juan Fernando García, José Luis Villar, Antonio Martínez, Socorro María Rodríguez Pinilla, Ana Batlle, Mariano Provencio Pulla, María Rozmán, Ramón García Sanz</i>	
<ul style="list-style-type: none">• Introducción• Guía general• Linfomas B no Hodgkin• Linfomas de Hodgkin. Linfomas B intermedios entre LH y LBDCG• Linfomas T y T/NK• Linfomas primarios cutáneos• Neoplasias de células histiocíticas y de células dendríticas	

5. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE NEUROPATOLOGÍA	185
"Guías de práctica clínica en neuropatología"	
<i>Miguel Angel Idoate Gastearena, Victoria Cusí, Cristina Jou, Alberto Rábano, Federico García Bragado, Eloy Rivas</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Introducción • Malformaciones del Sistema Nervioso Central • Neuropatología Oncológica • Enfermedades Neurodegenerativas • Biopsia Muscular • Biopsia de nervio periférico 	
6. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DE CABEZA Y CUELLO	233
"Patología tumoral de cabeza y cuello. Protocolos diagnósticos"	
<i>Llúcia Alòs, Rosario Carrillo, Margarita Alberola, Maria Rosa Bella, Montserrat Gomà</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Introducción • Cavidad oral y labio • Faringe • Laringe • Vaciamientos ganglionares laterocervicales 	
7. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DIGITAL	247
"Guía práctica para la implantación de la patología digital"	
<i>Marcial García Rojo, Antonio Félix Conde, Jaume Ordi, Juan Ruiz Martín, Josep M^a Corominas, Ramiro Álvarez Alegret, Luis Alfaro, Sonia Gatiús, Xavier Matías Guiu, Enrique de Álava, José Ramírez</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Introducción • Aspectos técnicos • Trazabilidad y patología digital • Patología digital en el diagnóstico anatomopatológico de rutina • Análisis automatizado de imagen frente a cuantificación manual en biomarcadores oncológicos • Coste efectividad de patología digital • Evaluación de riesgos y aspectos éticos. Normativa 	
8. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DE ENDOCRINA	279
"Propuestas para el manejo de las muestras y la elaboración del informe diagnóstico estandarizado."	
<i>José Manuel Cameselle-Teijeiro, Catarina Eloy, Ihab Abdulkader, Xavier Matías-Guiu, Manuel Sobrinho-Simões</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Introducción • Patología de la glándula tiroides. • Patología de las glándulas paratiroides 	
9. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA GINECOLÓGICA	305
"Guías anatomoclínicas de cáncer ginecológico"	
<i>Rosa Guarch Troyas, Ángel García, Josep Castellví, Jaume Ordi, Irmgard Costa Trachel, Iñaki Arias-Camisón, Aureli Torné, Marta del Pino, Maite Cusidó, Francesc Alameda, Daniel Andía, Xavier Castellsagué, Xavier Cortés, Rosario Granados, Belén Lloveras, Amina Lubrano, Juan Carlos Martínez-Escoriza, Luis M. Puig-Tintoré, Mar Ramírez, Silvia de Sanjosé, Rafael Torrejón, Xavier Matías-Guiu, Esther Oliva, María Merino, Jaime Prat</i>	
<ul style="list-style-type: none"> • Introducción 	

- Neoplasias de vulva
- Cáncer de cérvix uterino
- Guía de prevención de cáncer de cuello de útero
- Cáncer de Endometrio
- Sarcomas uterinos

10. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA MAMARIA..... 347

“Guía práctica de patología mamaria para patólogos”

Alicia Córdoba, Maite Mellado, María José Pons, Concepción De Miguel, Yerani Ruiz de Azua, Laia Bernet, Ángel Panizo, Jesús Javier Sola

- Introducción
- Correlación radiológica/ histológica.
- Muestras diagnósticas: citología y biopsia.
- Muestras quirúrgicas
- Ganglio centinela.
- Biomarcadores en cáncer de mama

11. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA..... 389

“Patología pediátrica tumoral. Protocolo de manejo de muestras macroscópicas, microscópicas y estandarización de los informes”

Mariona Suñol, Diego Pascual-Vaca Gómez, David Marcilla Plaza, M^a José Robles Frías, Felicia Sánchez Gallego, Samuel Navarro, David Marcilla, Enrique de Álava, David Marcilla, Daniel Azorín.

- Introducción
- Tumores renales infantiles
- Retinoblastoma
- Neuroblastoma
- Neoplasias de partes blandas
- Tumores óseos en edad pediátrica

12. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PULMONAR:..... 433

“Recomendaciones para el estudio del cáncer de pulmón. Consenso del Club de Pulmón de la Sociedad Española de Anatomía Patológica”

Clara Salas, F. Ignacio Aranda, Esther Conde, Javier Gómez-Román, Fernando López-Ríos, María Dolores Lozano, Luz Martín, M^a Luz Plaza, Mónica Saiz, Paula Toro.

- Introducción
- PAAF en pulmón
- Estudio macroscópico de las piezas quirúrgicas
- Biopsia intraoperatoria
- Marcadores inmunohistoquímicos
- Piezas de resección tras la neoadyuvancia
- Informe anatomopatológico de la pieza quirúrgica
- Biomarcadores

13. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA ULTRAESTRUCTURAL..... 457

“Patología Ultraestructural: Estado actual y propuestas de futuro”

Josep Lloreta Trull, Esther Roselló Sastre, Miguel Ángel Martínez González, Eduardo Vázquez-Martul, María Teresa Tuñón Álvarez, Carmen Navarro Fernández-Valbuena y los miembros del Club de Patología Ultraestructural

14. RECOMENDACIONES DEL CLUB DE UROPATOLOGÍA 463

"Protocolos de estudio macroscópico, microscópico e informe anatomopatológico de muestras de patología urológica. Consenso 2015"

Pilar González-Peramato, Ferrán Algaba, Isabel Trias, Ainara Azueta, David Ramos, M^a del Pilar Galle, M^a Isabel Hierro, Julian Sanz, Inés de Torres, Patricia Antúnez, Margarita Gimeno, Rafael J. Luque Barona, Eugenia García Fernández, Rocío Solórzano Marisca

- Introducción
- Protocolos de las piezas de nefrectomía
- Protocolos de vía urinaria
- Protocolos del cáncer de próstata
- Protocolos de muestras de testículo
- Protocolo de muestras de pene

15. RECOMENDACIONES DE "NO HACER" DE LA SEAP 539

Santiago Nieto Llanos

Presentación

GUÍAS CLÍNICAS DE CONSENSO, UNA NECESIDAD PARA EL TRABAJO COTIDIANO

Miguel Ángel Piris Pinilla

Presidente de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y División Española de la Academia Internacional de Patología (SEAP-IAP)

Las guías clínicas son recomendaciones para el cuidado de la salud de individuos en situaciones específicas; buscan optimizar la asistencia, consolidando el grado de conocimiento existente en un área precisa, defendiendo el derecho de los pacientes a recibir la mejor atención médica y protegiendo la práctica clínica responsable.

El diagnóstico de procesos complejos exige guías de consenso, que ordenen los recursos disponibles, faciliten a los pacientes el acceso a las técnicas de diagnóstico necesarias y homogenice los procedimientos diagnósticos y terapéuticos. Aunque los patólogos juegan un papel central en muchos de estos procesos, raramente lo hacemos de forma exclusiva, y en la elaboración de las guías de práctica clínica requerimos el concurso de otros especialistas.

España carece en la mayoría de los casos de guías clínicas oficialmente aprobadas, incluso de autoridades reconocidas capaces de aprobar dichas guías, por lo que las sociedades científicas asumen la responsabilidad de promover prácticas clínicas consensuadas, que reflejen la evidencia existente, para ofrecer a los pacientes la mejor medicina posible. Así la SEAP, en colaboración con la SEOM, la SEGO y la SEHH ha elaborado algunas guías de alto valor, en identificación de marcadores para diagnóstico o cribado, publicadas desde hace años en la Revista Española de Patología y otras revistas clínicas.

Las guías se basan en la evidencia alcanzada en una determinada situación y, por lo tanto, no pueden proponer protocolos de actuación en ausencia de esta evidencia. Las guías de práctica clínica no sustituyen el conocimiento ni las habilidades individuales, son complementarias al mismo, pero garantizan a los pacientes el mejor cuidado posible y a los clínicos un respaldo a sus necesidades.

El proceso para la elaboración de una guía de práctica clínica incluye las siguientes etapas:

- Formación de un grupo de trabajo con representación de especialistas en el tema, expertos en asesoramiento metodológico y representantes de los pacientes
- Identificación clara de las preguntas a contestar
- Encuesta a especialistas
- Revisión de la literatura
- Propuestas de acuerdo. Algoritmos sencillos son particularmente deseables.
- Estudio de coste-efectividad de las intervenciones propuestas
- Plazos y procedimientos para la actualización de la guía
- Declaración de intereses de los miembros del grupo de trabajo

Aunque hay variaciones dependientes de los grupos participantes o del tema a cubrir. Como la evidencia con frecuencia es sólo parcial, las guías de práctica clínica deben de citar el grado de evidencia preciso de una recomendación concreta. Hay diversas formas de graduar los niveles de evidencia. Entre ellas destaca el sistema GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evalua-

tion), usado por ejemplo en la Guía de cribado de cáncer cervical; o el sistema SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network)

Esta edición del Libro Blanco incluye una revisión de las guías de práctica clínica, redactadas por los Clubes de la Sociedad, con distinto grado de elaboración. En todos los casos, reflejan un avance importante sobre la situación previa, con algunos ejemplos particularmente brillantes. Es muy de agradecer el esfuerzo de Isabel Guerra y de los coordinadores de los Clubes de la SEAP. El material nos ayudará en el trabajo cotidiano y nos permitirá usarlo como base de discusión con nuestros colegas para avanzar en el consenso.

Introducción

Isabel Guerra Merino

Coordinadora de la edición

El Libro Blanco de la SEAP ha sido desde su primera edición un lugar donde poder plasmar el criterio de los especialistas y a la vez una referencia para todos los miembros de la sociedad. Los Clubes de la SEAP no habían reflejado su trabajo en él por escrito hasta el momento, a pesar de llevar muchos años trabajando en grupos y poniendo en común los temas candentes de cada una de sus subespecialidades en reuniones y congresos nacionales.

En esta ocasión el Libro Blanco está dedicado al trabajo de estos Clubes. Reúne 14 guías o recomendaciones para el diagnóstico anatomopatológico en las que se recogen desde cómo tratar las muestras o cómo realizar el estudio macroscópico y microscópico, a orientar sobre las técnicas inmunohistoquímicas y moleculares necesarias, junto a los requisitos de un buen informe anatomopatológico. Se ha hecho hincapié en la patología tumoral, pero también se ha escrito sobre autopsias, malformaciones, músculo y nervio y enfermedades neurodegenerativas. Además se abordan cuestiones como los requisitos básicos en patología infecciosa, las indicaciones en patología ultraestructural y se asientan las bases para implantar la patología digital en nuestros servicios. Por último se publican las "Recomendaciones de No Hacer" que desde los Clubs y a través de la SEAP se enviaron al Ministerio de Sanidad.

Este trabajo pretende transmitir lo esencial de cada materia, que sirva de referencia para los patólogos de nuestra sociedad. Ha sido realizado gracias al esfuerzo de muchos miembros de la SEAP que han dado lo mejor de su conocimiento y experiencia para la confección de este texto. En su recopilación, he querido respetar en lo posible los textos originales, a pesar de que como resultado la guía pueda adolecer de cierta uniformidad. De cara a las próximas ediciones del Libro Blanco queda abierta la puerta a nuevas guías y a la actualización de otras, siguiendo los niveles de evidencia recomendados.

Por último, me gustaría agradecer al Dr. José Antonio Gimenez Más la confianza que supone haberme pasado el testigo de la edición de este Libro Blanco.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE AUTOPSIAS DE LA SEAP

Introducción

Fidel Fernández, coordinador del club.

Correspondencia: apafff@humv.es

La Guía de Patología Autópsica que presentamos no pretende ser un manual al uso, sino un punto de partida para intentar unificar criterios en el procedimiento de la autopsia. Como quiera que hay muchos puntos en común con la patología forense, en la redacción de esta guía han participado patólogos clínicos y forenses. Hemos creído conveniente dividir este capítulo en varios apartados: autopsia clínica y autopsia médico legal, indicaciones de la autopsia clínica, requisitos para realizar una autopsia clínica, procedimientos normalizados de trabajo en la autopsia general y especial, la autopsia fetal y perinatal y, finalmente, requisitos del informe anatomopatológico de autopsia. Los temas de legislación y seguridad y salud laboral merecen un capítulo aparte, sin embargo recomendamos como punto de partida sendas revisiones publicadas en REA, y en el foro temático del Club de Autopsias de la SEAP. Cada apartado va acompañado de una bibliografía básica de referencia que hemos insertado al final del manuscrito donde se podrá encontrar amplia información, conceptual y técnica, incluida las revisiones comentadas sobre legislación y salud laboral en autopsias. Finalmente, hemos insertado varios anexos, que pueden servir de modelo para elaborar consentimientos informados, formularios y otros documentos utilizados en patología autópsica.

Guía de Patología Autópsica

Autores, por orden alfabético:

Félix Arce (1), Fidel Fernández (1), Iván Fernández-Vega (2), Ignasi Galtés (3), Isabel Guerra (2), Joaquín Lucena (4), Marta Mayorga (1), Rita María Regojo (5), M^a Paz Suárez (6), Nuria Terán (1).

(1) *Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander*

(2) *Hospital Universitario Araba, Vitoria-Gasteiz*

(3) *Instituto de Medicina Legal de Cataluña, Barcelona*

(4) *Instituto de Medicina Legal, Sevilla*

(5) *Hospital Universitario La Paz, Madrid*

(6) *Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, Madrid*

I. TIPOS DE AUTOPSIA: AUTOPSIA CLÍNICA Y AUTOPSIA MÉDICO-LEGAL

Existen tres tipos de autopsias: la autopsia fetal, la autopsia judicial o médico-legal y la autopsia clínica.

En ocasiones surgen dudas, a veces razonables, de la delimitación entre una autopsia clínica y una autopsia médico-legal. A efectos prácticos, podemos decir que una autopsia es **médico-legal**, y por tanto del ámbito judicial y de la competencia del médico forense, cuando se trata de una **muerte violenta** (de cualquier naturaleza) o **sospechosa de criminalidad**, independientemente de la causa inmediata de muerte y del tiempo que ésta tarde en producirse (a veces meses o incluso años). En estos casos no debe extenderse el certificado de defunción y siempre deben ponerse los hechos en conocimiento de la autoridad judicial. La persona encargada de comunicarlo al Juzgado debe ser el facultativo que ha sido llamado para prestar la asistencia o el que ha seguido su tratamiento en el centro hospitalario.

Las **muertes violentas** son producidas por causas externas, es decir, son el resultado inmediato o diferido de un proceso exógeno, ya sea de naturaleza suicida, homicida o accidental. Sin embargo, el concepto de **muerte sospechosa de criminalidad** es un concepto jurídico, independiente del origen del agente lesivo (exógeno o endógeno), que viene definido por las circunstancias en las que se produce la muerte, subsidiaria en cualquier caso de una autopsia judicial cuyo estudio postmortem determinará si se trata de una muerte natural o violenta. Las situaciones en las que algunas de las “muertes naturales” pueden presentarse como sospechosas de criminalidad, a juicio del facultativo que lo determine, son: a) Muertes sin asistencia médica conocida; b) Muertes en el curso de un proceso patológico de evolución atípica, y c) Muertes súbitas e inesperadas.

Son, pues, **autopsias judiciales o médico-legales**:

- Las **muertes violentas**: suicida, homicida o accidental (tráfico, laboral, fortuito, intoxicaciones, reacciones adversas a drogas, etc.).
- Las **muertes sospechosas de criminalidad**. En este apartado se incluirían algunas muertes descritas en el apartado anterior.
- **Otras muertes que deben ser tratadas como "no naturales"**
 - a) Fallecimientos en circunstancias de privación de libertad ("muertes en custodia").
 - b) Internamiento involuntario de un enfermo mental.
 - c) Fallecimiento durante la actividad laboral.

El objetivo de la **autopsia clínica**, cuando fallece por "muerte natural", sea la causa conocida o no, es el estudio de la **causa de muerte** y los **procesos contribuyentes**.

- Las **autopsias clínicas** pueden provenir:
 - a) De pacientes ingresados en el hospital. Son las **autopsias clínicas hospitalarias**.
 - b) De pacientes no ingresados en el hospital. Son las **autopsias clínicas extrahospitalarias**. Dentro de esta categoría se encontrarían las autopsias que provienen de **Hospitalización Domiciliaria**, de los propios domicilios remitidas por médicos de **Atención Primaria** o del **061** y de **otros centros u hospitales**. Con respecto a los casos de los fallecidos en el **Servicio de Urgencias**, el típico paciente que "ingresa cadáver", la mayoría de las veces va a ser subsidiario de autopsia judicial, específicamente cuando el paciente carece de antecedentes patológicos que justifiquen el desenlace. El Colegio de Patólogos Americano (CAP) también incluye dentro del ámbito médico legal a los fallecidos en las primeras 24 horas de acudir al hospital, de manera que el límite de tiempo para considerar una autopsia como judicial o clínica se establece habitualmente en las 24 h; menos de 24 h se considera una autopsia judicial y más de 24 h se considera una autopsia clínica.

Las normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses están recogidas en la orden JUS/1291/2010, de 13 de mayo (BOE Núm. 122, de 19 de mayo de 2010, pág. 43459 y ss).

II. INDICACIONES DE LA AUTOPSIA

Según el Colegio Americano de Patólogos, y como punto de partida, los siguientes **criterios** podrían ser útiles para la realización de la autopsia:

- Muertes en las que la autopsia pueda ayudar a explicar las **complicaciones médicas** existentes.
- Todas las muertes en las que la **causa de muerte o el diagnóstico principal** (padecimiento fundamental) **no sea conocido** con una seguridad razonable.
- Casos en los que la autopsia pueda **aportar a la familia o al público en general datos importantes**.
- **Muertes no esperadas o inexplicables tras procedimientos diagnósticos o terapéuticos, médicos o quirúrgicos**.
- Muertes de pacientes que han participado en **protocolos hospitalarios**.
- **Muertes** aparentemente naturales **no esperadas o inexplicables**, no sujetas a la jurisdicción forense.
- **Muertes por infecciones de alto riesgo y enfermedades contagiosas**.
- **Todas las muertes obstétricas**.
- **Todas las muertes perinatales y pediátricas**.
- **Muertes por enfermedad ambiental u ocupacional**.
- **Muertes de donantes de órganos** en los que se sospeche alguna enfermedad que pueda repercutir en el receptor.
- **Muertes ocurridas en las primeras 24 horas** del ingreso en el hospital y/o en aquellas que pudieran estar influidas por su estancia hospitalaria.

El Real Decreto 2230/1982 (BOE 218/1982 de 18 de Junio) recoge los siguientes **supuestos**:

- a) Que un estudio clínico completo no haya bastado para caracterizar suficientemente la enfermedad.
- b) Que un estudio clínico haya bastado para caracterizar la enfermedad suficientemente, pero exista un interés científico definido en conocer aspectos de la morfología o de la extensión del proceso.
- c) Que un estudio clínico incompleto haga suponer la existencia de lesiones no demostradas que pudieran tener un interés social, familiar o científico.

Los clínicos que solicitan autopsias esperan que se descubran en ellas lesiones que expliquen determinados signos o síntomas (28%), la causa de muerte (21%) o simplemente que se confirme el diagnóstico clínico (19%). En un porcentaje elevado de casos (casi el 40%) la autopsia revela algún hallazgo importante que ha contribuido a la muerte del paciente.

III. REQUISITOS PARA REALIZAR UNA AUTOPSIA CLINICA

- **“Certificado de muerte cierta”** emitido por el médico que solicita la autopsia, en el que se hará constar el día y la hora de fallecimiento o, lo que es más habitual, **certificado de defunción**.
- **Autorización de estudio necrópsico o consentimiento informado**, según modelo normalizado. Deben habilitarse, además, procedimientos normalizados de **consentimientos informados específicos** para la recogida de muestras con destino al biobanco y al banco de tejidos neurológicos, y para la eventual revocación del consentimiento informado previo.

Es importante que en la autorización de necropsia figure tanto el médico responsable y el servicio de procedencia como, en caso de ser diferente, el médico que solicita la autopsia y el servicio al que pertenece, a efectos de estadística hospitalaria.

Otra cuestión de especial relevancia es la cumplimentación, en la misma hoja de autorización de necropsia, de los datos referentes a la dirección postal del familiar o representante legal del fallecido para hacerle llegar, en su caso, por correo una copia del informe final de la autopsia.

- **Resumen de la historia clínica** en el que queden reflejados, cuando sea posible, los siguientes aspectos:
 - Datos de filiación.
 - Antecedentes personales y familiares.
 - Enfermedad actual.
 - Datos más relevantes de la exploración física y exámenes complementarios.
 - Padecimiento fundamental y causa de muerte sospechada.
 - Problemas clínicos que espera sean resueltos con el estudio anatomopatológico.
- **Traslado del cadáver al Servicio de Anatomía Patológica**. El traslado del cadáver, cuando éste proceda de su domicilio o de otro hospital, no será en ningún caso gravoso para los familiares (art. 2.1 de la Ley 29/1980 y art. 4.1 del Real Decreto 2230/1982) (BOE 154/1980, BOE 218/1982).

IV. PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE TRABAJO

A. PROSECCIÓN Y TOMA DE MUESTRAS EN LA AUTOPSIA GENERAL.

La autopsia clínica u hospitalaria debe responder a cuestiones específicas. Por ello, el paso previo y más importante de todo el acto es la **lectura de la historia clínica** y la comunicación con el clínico para conocer el interés específico de la autopsia. Unas veces con el objetivo de encontrar la explicación a una muerte inesperada y otras para confirmar sospechas diagnósticas.

La autopsia debe realizarse de forma estandarizada y sistemática, y a la vez flexible, para adaptarse a los requerimientos de cada caso. El objetivo primordial es utilizar una técnica que destruya lo menos posible órganos y sistemas para posteriormente estudiar en profundidad las estructuras anatómicas correspon-

dientes. La autopsia puede ser completa, o limitada a una o dos cavidades. Puede ser estándar o incluir procedimientos especiales.

PROSECCIÓN DE LA AUTOPSIA ESTÁNDAR

1. **Examen externo:** Describir signos físicos que persisten tras la muerte.
2. **Incisión:** Puede ser en T, en Y o en Y modificada.
3. **Apertura tóraco-abdominal.**
4. **Examen interno:** Antes de eviscerar o extraer los órganos, es preciso observar las cavidades y los órganos in situ.
5. **Extracción de los órganos en bloque:** La técnica de elección es la disección en bloque de los órganos cervicales, torácicos, abdominales y pélvicos. Esta es la mejor técnica para preservar la vascularización. Permite una evisceración rápida y se conserva la relación entre los órganos.
6. **Separación en bloques:** Una vez extraído en bloque todo el paquete visceral se separará en bloques menores o paquetes.
7. **Prosección por aparatos:** Siguiendo este orden para disminuir la autólisis visceral: digestivo, genitourinario, cervicotorácico.
8. **Estudio macroscópico:** Las descripciones han de ser precisas, objetivas y concisas, incluyendo localización de la lesión.
9. **Fotografías macroscópicas:** De todo aquello que se quiera mostrar. Una fotografía puede ser más valiosa que una descripción compleja.
10. **Anotaciones en la hoja de trabajo.**
11. **Estudios complementarios.** Para diagnosticar algunas enfermedades o aclarar algunas sospechas clínicas, es preciso conocer los requisitos diagnósticos de prosección y de toma de muestras para su estudio complementario. Pueden ser necesarios: estudios radiológicos de órganos, cultivos microbiológicos, de histoquímica, inmunofluorescencia o microscopía electrónica, moleculares o de genética (para los que el tejido deberá estar en fresco o en los medios específicos), determinaciones químicas en tejidos y líquidos corporales.
12. **Toma de muestras para biobanco.** Se recogerán muestras de tejidos y de sangre en congelación para biobanco de tumores, de tejidos neurológico/SNC o de otro tipo disponible para investigación.
13. **Toma de muestras para estudio histológico.** Deben tomarse muestras de tejido de las lesiones macroscópicas y, de forma rutinaria, de los órganos para ser fijadas en formol. El número de bloques para estudio histológico depende del criterio del patólogo.
14. **Informe macroscópico (provisional) y microscópico (final).**

PROCEDIMIENTOS ESPECIALES DE PROSECCIÓN

Dependiendo de las necesidades del caso puede ser preciso aplicar procedimientos especiales dirigidos al estudio concreto de ciertas regiones anatómicas: corazón (técnicas macroenzimáticas, estudio del sistema de conducción, estudio de las coronarias), vasos (venas profundas), pulmón (neumotórax, embolia), digestivo (varices esofágicas), sistema nervioso periférico y músculo (nervio sural, cervical o lumbar y músculo), ojos, oído y peñasco.

ESTUDIO POSTMORTEM POR PUNCIÓN

Una alternativa a la autopsia convencional es el estudio postmortem por punciones, con o sin estudio radiológico complementario. Las situaciones en las que es recomendable este procedimiento son dos: 1/ cuando no hay autorización de los familiares para autopsia completa, pero sí se acepta la toma de muestras por punción; y 2/ en casos de infección por HIV o similar, para evitar posible contagio.

B. AUTOPSIA CARDIOVASCULAR

METODOLOGÍA BÁSICA

En todas las autopsias, haya o no antecedentes de enfermedad cardiaca, hay que hacer un estudio básico y protocolizado, empezando por el **examen externo y el peso cardiaco**. Es fundamental disponer de las medidas y peso corporales, así como de tablas con pesos de referencia.

Se deben realizar **cortes transversales biventriculares** de 1,5-2 cm de espesor desde la punta cardiaca (apoyando el corazón sobre su cara anterior), hasta los músculos papilares para preservar el aparato valvular íntegro. La experiencia indica que las secciones obtenidas **tras la fijación** (al igual que sucede con el encéfalo), permiten valorar mejor la patología del miocardio.

La base cardiaca se abre siguiendo la dirección de la corriente sanguínea para estudiar las aurículas y las válvulas. La aurícula derecha debe abrirse mediante corte desde la desembocadura de la cava inferior a la punta de la orejuela derecha. Evitar seccionar de cava inferior o cava superior para no comprometer el nodo sinusal.

Las **coronarias** se estudian desde los ostia en los senos aórticos correspondientes. Su permeabilidad se determina mediante cortes transversales cada 3-5 mm a lo largo de toda su longitud. Es preferible estudiarlas con el corazón ya fijado y, si están calcificadas, hay que disecarlas previamente, sumergirlas en solución descalcificadora (ácido nítrico al 4,5% por ejemplo), y proceder a continuación al estudio con los cortes transversales comentados.

ESPECIALES:

- **PARA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA:**
 - Recomendable **estudio radiológico** del corazón entero para valorar calcificación de coronarias y presencia de stents.
 - **Coronariografía postmortem.**
 - Sumergir los cortes biventriculares en fresco en sales de tetrazolio para **diagnóstico macroscópico de infarto de miocardio reciente.**
 - Los tramos portadores de **stent** pueden someterse a electrolisis para la disolución de los elementos metálicos antes de los cortes seriados y de su inclusión en parafina.

- **PARA MIOCARDIOPATÍAS O MUERTES SÚBITAS DE CAUSA NO CONOCIDA**
 - Seleccionar cortes para **estudio microscópico** de pared libre de ambos ventrículos y tabique de al menos dos niveles (medio y apical).
 - **Estudio del sistema de conducción.**
 - Toma de muestras específica para **estudios moleculares:**
 - Sangre con EDTA (10 ml). Se debe guardar congelada (preferentemente a -80°C).
 - 5 g de corazón o bazo en fresco.
 - Miocardio ventricular en fresco (3 mm³) en tubo específico para virus.

- **ESTUDIO DEL SISTEMA DE CONDUCCIÓN**
 - **Nodo sinusal:** Situado en la aurícula derecha próximo a la desembocadura de la vena cava superior. Para su estudio se extrae en bloque la crista terminalis y se realizan cortes transversales perpendiculares a la misma.
 - **Sistema aurículo-ventricular:** Es un eje continuo formada por el nodo AV (situado por delante de la desembocadura del seno coronario); el haz de His (discurre a nivel de la inserción del velo septal de la válvula tricúspide); y las ramas izquierdas (varias) y derecha (final del fascículo). Para su estudio se obtiene un bloque del tabique aurículoventricular que comprende (visto desde el lado derecho) desde la desembocadura del seno coronario hasta el músculo papilar septal de la válvula tricúspide (por delante del septo membranoso). A partir de este bloque se realizan cortes lo más fino posibles obtenién-

dose de 6-9 secciones que se procesan con normalidad y se tiñen con Hematoxilina-Eosina y tricrómico de Masson.

C. PRIONOPATÍAS EN HUMANOS. MANEJO DE MUESTRAS Y ELABORACIÓN DE UN INFORME NEUROPATOLÓGICO ESTANDARIZADO.

ASPECTOS GENERALES

Las enfermedades neurodegenerativas causadas por priones o prionopatías son un grupo de enfermedades poco frecuentes que cursan con trastornos neurológicos de rápida evolución y desencadenan la muerte del individuo.

El prion o PrPres posee unas propiedades que lo hacen resistente a los métodos de limpieza y desinfección convencionales por lo que son necesarias medidas de seguridad especiales.

Las principales **enfermedades espongiformes transmisibles** (EET) humanas son la **enfermedad de Creutzfeldt-Jakob** (ECJ), el **insomnio familiar fatal** (IFF), el **síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker** (GSS) y el **kuru**. Todas muestran largos períodos de incubación.

MEDIDAS DE SEGURIDAD

Los exámenes postmortem siguen siendo un elemento esencial en la confirmación de la clínica de sospecha de prionopatía. Sin embargo, potencialmente expone a patólogos, técnicos y a otros profesionales a un riesgo de contagio, por lo que debemos conocer una serie de pautas de seguridad antes de manipular tejido contaminado con priones. Por consiguiente, la manera más efectiva de evitar infecciones u otro tipo de accidentes es trabajar respetando las normas de bioseguridad biológica y, en el caso de los priones, conocer la transmisión del mismo, que es por exposición percutánea del prosector sobre tejido contaminado, principalmente tejido del sistema nervioso central. En este sentido, tendremos que aplicar el principio fundamental de la bioseguridad que es la contención:

- **Contención primaria:** Comprende todos aquellos dispositivos o aparatos que garantizan la seguridad personal. Debemos utilizar cabinas de seguridad biológica y elementos de protección personal como ropa desechable incluyendo gorro quirúrgico, delantal, guantes dobles y una visera que cubra completamente la cabeza del operador para proteger los ojos, la nariz y la boca. Se debe considerar también el uso de guantes resistentes a los cortes.
- **Contención secundaria:** Centrada en el diseño de las instalaciones internas de la sala de autopsias. Las instalaciones deben incluir la separación de las zonas con acceso al público, flujo de circulación del personal, disponibilidad de sistemas de descontaminación o autoclaves, presión de aire negativa, filtrado del aire de salida al exterior y flujo de aire direccional.
- **Contención terciaria específica:** Superficies resistentes de fácil limpieza y desinfección, salas intermedias de acceso, mesas regulables en altura, sierras con sistemas de aspiración y otros equipos adecuados. Siempre que sea posible el instrumental y el equipo utilizado para el trabajo con priones deben ser dedicados exclusivamente a esa tarea. Los métodos de desinfección más eficaces que se utilizan actualmente son el autoclave (con temperaturas superiores a 134°C) y el hipoclorito sódico (lejía) durante aproximadamente 60 minutos.

Por último, el personal del servicio debe ser informado de que en la sala de autopsias se está procediendo a la extracción de un cerebro con posible prionopatía. La entrada a la sala de autopsias será restringida al personal preparado que va a realizar el procedimiento.

ESTUDIO MACROSCÓPICO

- **Extracción del tejido neurológico.** Habitualmente el examen se limita al cerebro. Para evitar la autólisis del tejido es recomendable realizar la extracción dentro de las primeras 24 horas del fallecimiento. La entrada a la sala de autopsias será restringida al personal preparado que va a realizar el

procedimiento, que idealmente serán tres personas: el patólogo con la asistencia de un técnico y una persona más para realizar las anotaciones pertinentes. El cuerpo del fallecido debe permanecer siempre dentro de la bolsa de cadáveres. Se debe colocar un paño absorbente debajo de la cabeza para asegurar la contención de los restos de tejido y fluidos corporales (sangre y el líquido cefalorraquídeo) resultantes de abrir la calota, mediante una sierra eléctrica con sistemas de aspiración. Una vez extraído el cerebro se procederá al cierre de la calota y de la incisión en el cuero cabelludo con grapas metálicas. Finalmente, todos los instrumentos y la superficie de la sala de autopsias deben de ser descontaminados usando los métodos de desinfección previamente descritos. A su vez, el paño absorbente que contiene los restos de tejido y drenaje deben ser embolsados, sellados y enviados para su incineración.

- **Manipulación del tejido cerebral en fresco** (para material de investigación donado a los biobancos de tejidos neurológicos). Se debe trabajar siempre dentro de una cabina de flujo laminar respetando las medidas de contención primaria. Las muestras de tejido se tomarán según protocolo de las regiones predefinidas, congelándose y almacenándose a 80°C. Se recomienda tomar muestras de aproximadamente 1 cm³ de tejido fresco de corteza frontal, parietal, temporal, occipital, caudado, putamen, tálamo y cerebelo para el estudio molecular por WB de las prionopatías.
- **Manipulación del tejido cerebral tras fijación:** Tallado. Tras un periodo recomendado de unas 4 semanas de fijación en formol al 10% para el correspondiente estudio neuropatológico, cabe destacar que el tejido cerebral todavía es contagioso. Se trabajará, por tanto, extremando las normas de bioseguridad previamente descritas y se realizará el tallado dentro de una cabina de flujo laminar.
- **Estudio molecular:** La variabilidad observada en el gen que codifica la PrPC (PRNP) en los seres humanos en forma de polimorfismos ha sido reconocida como una fuente de heterogeneidad de la enfermedad. Estudio de las principales variantes genotípicas y proteicas (EETs humanas esporádicas y EETs humanas familiares).

ESTUDIO MICROSCÓPICO E INMUNOHISTOQUÍMICO

Descripción de las lesiones microscópicas y detección con técnicas inmunohistoquímicas con el anticuerpo anti-PrP clon 3F4.

INFORME NEUROPATOLÓGICO

Dada la heterogeneidad biológica y fenotípica de las enfermedades priónicas, la identificación de la cepa o cepas priónicas asociadas con cada caso de EET humana tiene implicaciones obvias para el diagnóstico, para la vigilancia epidemiológica y para una futura terapéutica. En este sentido, debemos prestar especial atención en tratar de reconocer fenotipos mixtos desde el punto de vista histológico (histotipos) y también molecular, mediante WB, para tratar de reconocer si son causados por una o varias variantes de PrPres o bien identificar formas atípicas correspondientes a priones sensibles a protinasa K y hacerlo constar en el diagnóstico.

Por último, se ha visto que en la propia neurodegeneración pueden coexistir varios desórdenes proteicos en el mismo cerebro. En este sentido, es importante comprobar la carga de patología, Tau, alfa-sinucleína, TDP43 y otras, que pudiera tener cualquier cerebro prionopático.

D. PROSECCIÓN NEUROPATOLÓGICA Y ESTUDIOS ESPECIALES.

Existen numerosos libros de autopsia y de neuropatología que abordan con suficiente detalle el abordaje y extracción del cerebro.

Brevemente, tras **una incisión del cuero cabelludo** de oreja a oreja (es mejor cortar con el filo del bisturí en la dirección del corte porque se corta menos pelo), se refleja el scalp, se hace una incisión en los maseteros, y se procede a serrar el cráneo con una **sierra oscilante**. El cerebro se retrae hacia atrás, se **cortan los**

nervios ópticos y extremo de la carótida interna, el tallo de la hipófisis y nervios adyacentes y, volcando el cerebro (contenido con la otra mano) hacia un lado y otro, se procede al corte de la **tienda del cerebelo**. Se cortan **las vertebrales y la médula espinal** tan abajo como sea posible y se termina de extraer el cerebro dejándolo caer hacia atrás sobre la mano que lo soporta.

Tras pesarlo, se deja colgado en formol mediante un cordel que pase por debajo de la basilar, durante una o dos semanas antes de su tallado.

Estas generalidades, suficientemente conocidas, tienen pocas excepciones. La más importante puede ser la que constituye un profuso sangrado basal. En ese caso, antes de fijar conviene retirar la sangre mediante un chorro de agua y cuidadosa manipulación hasta exponer los vasos del **polígono de Willis**, de tal manera que se pueda verificar o descartar la presencia de un posible aneurisma, lo que se vuelve mucho más complicado cuando la fijación ha endurecido la sangre. Los forenses, a veces tienen la presión de cortar el cerebro en fresco para evaluar la causa de muerte. Para evitar la distorsión postfijación, lo mejor sería un corte a través del mesencéfalo y otro, coronal, de los hemisferios cerebrales a través de los tubérculos mamilares, suficientes para descartar una hemorragia como causa de muerte.

Otra excepción la constituyen las **anomalías de fosa posterior**, que requieren un abordaje específico, como se detalla en el apartado de autopsia fetal.

Desde este procedimiento común son varias las técnicas adicionales posibles:

- La exploración del **nervio óptico, órbita e** incluso polo posterior del **globo ocular** puede hacerse sin más que un par de cortes de sierra del ala del esfenoides. El ojo adquiere una apariencia natural taponando con gasa el interior.
- El **oído interno** queda accesible con un corte de sierra (o golpe con cincel) a la altura de la mitad del peñasco.
- El **sifón de la carótida y ganglio de Gasser** se encuentran a ambos lados de la silla turca, fácilmente accesibles con el bisturí.
- Una disección cuidadosa de las estructuras periselares puede hacerse tras remover la silla en bloque con la sierra. Ello permite, en un segundo tiempo, mostrar las partes distales de los **pares craneales III, V y VI, además del nervio óptico** (y carótida y ganglio de Gasser como dijimos antes).
- Los **senos** pueden abordarse por la base del cráneo, los **frontales y etmoidales** por la lámina cribiforme y los esfenoidales por la parte anterior de la silla turca. Son pequeños o inexistentes en los primeros años.
- En todos los casos en que haya habido un trauma craneal será necesario retirar la dura, para demostrar posibles **fracturas de la base craneal**.
- La **arteria temporal superficial** suele ser abordable al retirar el cuero cabelludo, justo anterior al pabellón auricular.
- La **médula espinal** muchas veces no se extrae. No lleva más de 5 minutos su extracción tanto por vía anterior como posterior. La vía anterior tiene la ventaja de permitir la inspección o extracción de **ganglios simpáticos**.
- **Disección del cuello**. Más allá de los casos forenses, puede resultar útil explorar, bajo el esternomastoideo (que cortaríamos), el paquete vascular, el nervio vago y sus adyacentes glossofaríngeo, hipogloso y accesorio. Veremos también el ganglio interior del vago y los ganglios simpáticos cervicales (superior, medio e inferior).
- **Músculos y nervios**. En caso de neuropatía o enfermedad neuromuscular, lo mínimo sería tomar la médula espinal con raíces anteriores y posteriores, músculo y nervio del cuello y porciones proximales y distales de los miembros superior e inferior. Para patologías relacionadas con pares craneales, se recomienda tomar el **digástrico y esternomastoideo**. Del miembro inferior, el **femoral** a su salida del psoas, y el nervio **sural**, junto al maleolo externo. Una incisión palmar dará acceso a ramas distales de los nervios y a músculos de la **región tenar e hipotenar**, útiles para el estudio de placas motoras. Debe ser innecesario decir que músculos y nervios deben ser obtenidos con el menor trauma posible y que su tratamiento posterior debe ser semejante al que se hace con los músculos de biopsias.

E. TOMA DE MUESTRAS PARA EL BANCO DE TEJIDOS NEUROLÓGICOS (BTN)

Los mayores esfuerzos de los biobancos son en materia de control de calidad. El objetivo es definir criterios de referencia en la toma de muestras de tejidos y en los diagnósticos neuropatológicos.

Los casos que se incorporan al biobanco deben cumplir con la **Ley de Investigación Biomédica 14/2007** y también lo dispuesto en el **Real Decreto 1716/2011 que regula los Biobancos en España**. Las donaciones al biobanco se recibirán acompañadas de los siguientes documentos: **solicitud de autopsia, consentimiento informado de autopsia y de donación al biobanco y certificado de defunción**.

Cada caso ha de manipularse como de riesgo biológico y el material fresco debe ser manejado, con indumentaria de protección de autopsia, en una **campana de extracción** adecuada.

Una hoja de recogida de datos podría ser de ayuda hasta la **digitalización** de los mismos en una aplicación informática adecuada que garantice su **confidencialidad** y protección. Los datos necesarios son: fecha y hora de la recogida de la muestra, tiempo postmortem, peso del encéfalo, pH del líquido cefaloraquídeo, localización de las muestras disecadas, medios de fijación y tipo de conservación, prosector/neuropatólogo, datos macroscópicos y observaciones.

El **protocolo** de procesamiento del encéfalo y médula para BTN es el siguiente:

1. Tras la craneotomía, recoger el **líquido cefaloraquídeo**, entrando en el III ventrículo, con una jeringa, por la base encefálica. Medir el pH, centrifugar y almacenar a -80°C en alícuotas de 1 ml.
2. **Pesar** el encéfalo, **fotografiar y anotar el tiempo postmortem** (debe ser procesado lo antes posible)
3. Dividir el encéfalo en fresco, mediante un **corte sagital**, en los dos hemisferios, incluyendo el troncoencéfalo y cerebelo.
4. El **hemisferio derecho** es **enfriado a 4°C en una bolsa de plástico**, hasta su procesamiento.
5. Las **secciones** obtenidas del tejido fresco son fotografiadas. Se preservará el material en cuatro medios:
 - Congelación a -80°C . Disección de subáreas y secciones.
 - Fijación en paraformaldehído y congelación tras crioprotección, para técnicas de marcaje con fluorescencia.
 - Fijación en glutaraldehído al 2% en buffer fosfato para microscopía electrónica.
 - Preservación del tejido en RNA "later" y posterior congelación.
6. El **hemisferio izquierdo** es sumergido en **formaldehído**, depositándolo sobre la cara medial en la base del contenedor. Fijar entre 1 y 2 semanas. Este material será incluido en parafina según un protocolo de tallado establecido para el diagnóstico neuropatológico de enfermedades neurodegenerativas.

Los bloques de tejido embebido en parafina y el tejido remanente en formol serán archivados y conservados en el biobanco.

F. LA AUTOPSIA FETAL Y PERINATAL

La **autopsia fetal y perinatal** es un pilar fundamental en la especialidad multidisciplinar de medicina fetal que incluye a obstetras, neonatólogos, genetistas clínicos y moleculares, bioquímicos y patólogos.

La **mortalidad perinatal** es la suma de las muertes fetales y las de los nacidos vivos que fallecen en los siete primeros días de vida. No existe consenso internacional sobre a partir de cuántas semanas de edad gestacional considerar las muertes fetales y esto dificulta las comparaciones estadísticas. De acuerdo con la definición de la OMS, la **muerte fetal** es la muerte acaecida antes de la completa expulsión o extracción de la madre, del producto de concepción, con independencia de la duración de la gestación.

Tampoco existe acuerdo unánime sobre cuándo considerar a un feto como biopsia y cuándo como autopsia ya que no hay legislación al respecto y depende de los centros. **Se aconseja adscribirlos como biopsia si tienen hasta 13 semanas (el primer trimestre, según la FUR) y como autopsia a partir de esa semana**. El patólogo es imprescindible para responder a las preguntas del tipo ¿Qué pasó?, ¿Por qué ocurrió?, ¿Puede volver a repetirse? ¿Qué medidas se deben tomar en el cuidado del próximo embarazo?.

Para el estudio completo del feto y la placenta es imprescindible una información clínica adecuada. Es recomendable proporcionar a los obstetras una hoja de petición con los parámetros que necesitamos.

Los fetos muertos intraútero mayores de 20 semanas deben venir con el certificado de restos abortivos firmados por el médico y los fetos de más de 26 semanas con la autorización de autopsia firmada por uno de los padres y el médico. En cuanto a los nacidos vivos (el límite de viabilidad en la actualidad está en torno a las 22-23 semanas), independientemente de la edad gestacional y el tiempo de vida, deben incluir la autorización de autopsia firmada por uno de los padres y un resumen de la historia clínica de neonatología.

PROTOCOLO DE RUTINA EN TODA AUTOPSIA FETAL Y PERINATAL

Recomendamos la lectura del protocolo de autopsia perinatal del Grupo de trabajo de Asturias disponible en la página web del Club de Autopsias de la SEAP. (http://eusalud.uninet.edu/cl_autopsias/Documentos/Protocol/Protocol.htm)

1. **Examen externo:** Se debe documentar peso y medidas (talla, longitud vertex- cóccix, perímetro craneal, torácico y abdominal y longitud de la planta del pie). Con estos datos podremos evaluar madurez, desarrollo y crecimiento al comparar estas cifras con los valores esperados con tablas de normalidad según edad gestacional. Existen tablas disponibles en los libros clásicos como el de Stoker-Dehner y en publicaciones más recientes de población americana. Para contrastar las medidas faciales (distancias intercantales, fisuras palpebrales o filtrum) hay tablas publicadas de gran utilidad.
2. **Fotografías:** Imprescindibles para documentar el caso. Hay una creciente demanda por parte de las familias de las fotos del feto realizadas durante la autopsia con el fin de superar el duelo sufrido por la pérdida. Se pueden entregar en un CD, previa petición oficial vía Servicio de Atención al Paciente para garantizar la confidencialidad de la información.
3. **Radiografía:** Si no se dispone de equipo radiográfico se recomienda seleccionar los casos y acudir al Servicio de Radiología. Es útil para detectar anomalías óseas y poder describir el cuadro malformativo completo. Si se sospecha una displasia esquelética las radiografías son imprescindibles para su catalogación.
4. **Examen interno y toma de muestras.** Los pesos de los órganos hay que compararlos con los esperados con las tablas de normalidad según la edad gestacional. No debemos olvidar el hueso (unión costo-condral, cuerpo vertebral y epífisis superior de la tibia) para el estudio de la placa de crecimiento y la hematopoyesis y es imprescindible ante la sospecha de displasia ósea y de fracturas. En cuanto al SNC, se debe pesar y realizar un minucioso estudio postfijación (15 días) del cerebro, cerebelo y médula.
5. **Examen histológico:** Sirve tanto para evaluar el desarrollo y crecimiento de los órganos como para reconocer diferentes lesiones.

IMPORTANCIA DE LA PLACENTA

La alteración de la función placentaria es la causa de la mayoría de los problemas en el último trimestre de la gestación, algunas asociadas con el crecimiento intrauterino retardado. Todo informe de autopsia fetal debe incluir peso y dimensiones de la placenta, características del disco, del cordón y de las membranas. Para el estudio de las anastomosis en las transfusiones feto-fetales en gestaciones monocoriales la placenta debe recibirse en fresco.

ESTUDIOS ESPECIALES

Con la sospecha clínica y lo encontrado en la inspección macroscópica debemos decidir si son necesarias pruebas complementarias. Si se sospecha una **alteración metabólica se congelará hígado, corazón y músculo**. Si la sospecha es **de miopatía se tomará músculo en congelación para histoquímica y muestra para el microscopio electrónico**. Si estamos ante un hídrops sin causa conocida debemos tomar muestras en fresco para **citogenética** y congelar para posibles estudios metabólicos.

Estudio microbiológico: Algunos patólogos realizan estudios bacteriológicos de rutina en las autopsias fetales. Las muestras se deben tomar en condiciones estériles.

Estudio citogenético y genética molecular: Las anomalías cromosómicas y genéticas producen el 60% de los abortos del primer trimestre y su conocimiento es esencial para un adecuado consejo genético a los

padres. Lo óptimo es enviar tejido en fresco (piel, riñón, hígado o bazo) al Servicio de Genética con información de las anomalías detectada; incluso en los macerados la muestra de cartílago mantiene células viables que permiten realizar su cultivo postmortem. En el caso de no disponer de Servicio de Genética, es aconsejable congelar a -70° C para poder disponer de ADN para estudios de genética molecular. Para los casos en los que no se ha tomado material fresco ni en congelación se puede extraer ADN del bloque de parafina y, mediante la técnica de QF PCR, descartar las aneuploidias más frecuentes (13, 18, 21, X e Y).

INFORME FINAL

Deben constar los **datos macroscópicos** (peso, talla, perímetros, hallazgos radiográficos y la descripción y peso de los órganos), la descripción detallada de las **malformaciones, si las hubiere, y la descripción de los hallazgos histológicos** de cada órgano. El informe incluirá la **descripción macroscópica y microscópica de la placenta**. De forma ordenada constarán los **diagnósticos definitivos** correspondientes al **feto o recién nacido, a su placenta y al cariotipo**, si ha sido realizado y en qué tejido. En cuanto a los tiempos de respuesta del informe de autopsia fetal debemos emitirlos en **un máximo de 30-45 días** ya que el obstetra y los padres desean programar la siguiente gestación y la información de la autopsia es de gran utilidad.

V. INFORME ANATOMOPATOLÓGICO DE AUTOPSIA

Para que el informe anatomopatológico de autopsia sea eficiente debe cumplir los siguientes **requisitos**:

- Emisión en un tiempo razonable. Se establecen como tiempos de referencia para el informe provisional 2 días, y para el informe definitivo 30-60 días.
- Diagnósticos ordenados de forma comprensible, que incluyan al menos los diagnósticos primarios, las causas contribuyentes y los procesos secundarios o asociados.
- Respuesta clara a los problemas planteados por el clínico que espera ver resueltos en la autopsia.

Para incrementar la calidad y la eficiencia de la autopsia y del **informe anatomopatológico** se recomienda implementar otras acciones:

- Desarrollo de la autopsia rápida, acortando los tiempos señalados.
- Protocolo normalizado de los diagnósticos: diagnósticos primarios (causa básica, causa intermedia y causa directa), diagnósticos secundarios, diagnósticos de procesos contribuyentes y diagnósticos accesorios.
- Contribución al certificado de defunción colaborando con el médico de Atención Primaria o Especializada.
- Concordancia entre los diagnósticos clínicos y anatomopatológicos.
- Sesión clínico-patológica y cierre de historia clínica con una evaluación conjunta multidisciplinar.
- Participación en la Comisión de Mortalidad del hospital.

La ordenación - clasificación y ponderación de los diagnósticos anatomopatológicos debe hacerse por **categorías**:

- Los **diagnósticos primarios** son la causa básica, la causa intermedia (cuando exista) y la causa directa de muerte. A veces no existe causa intermedia, en cuyo caso los diagnósticos primarios se limitan a dos, la causa básica y la causa directa de muerte.
- La **enfermedad principal o padecimiento fundamental** es sinónimo de **causa básica**, causa inicial o fundamental de muerte, es decir, "la enfermedad o lesión que inició la cadena de acontecimientos patológicos que condujeron directamente a la muerte, o las circunstancias del accidente o violencia que produjo la lesión fatal". Ejemplos de causa básica de muerte son aterosclerosis, tumor maligno, diabetes mellitus o cirrosis hepática, entre otros.
- La **causa inmediata o directa de muerte** es la enfermedad o condición que causó finalmente la muerte. Ejemplos de causa directa de muerte son infarto agudo de miocardio, infarto cerebral, extensión

tumoral, tromboembolismo e infarto pulmonar, bronconeumonía, sepsis, hemorragia digestiva, edema agudo de pulmón, o daño multiorgánico entre otras.

- La **causa intermedia de muerte** es la enfermedad o condición, si hay alguna, que ha contribuido a la causa inmediata.
- Pueden existir otros procesos que contribuyan a la muerte. Son las **causas contribuyentes**. Las causas contribuyentes no están relacionadas ni son desencadenantes de la causa inicial o fundamental.
- Conviene diferenciar también los **procesos secundarios o asociados y los accesorios**. No todos y cada uno de los procesos secundarios o asociados al padecimiento fundamental son los que conducen finalmente a la muerte y son, por tanto, causa directa de muerte.

Es habitual, por otra parte, la presencia de lesiones que no han dado lugar a ningún tipo de manifestación clínica. Constituyen hallazgos accesorios, en tanto en cuanto no han repercutido en la evolución del paciente ni han modificado la historia natural de su enfermedad, pero muchas veces sí que tienen una extraordinaria importancia desde el punto de vista epidemiológico o patobiológico.

¿Cómo hacer una correlación entre los diagnósticos clínicos y anatomopatológicos, y ponderar las discrepancias entre ambos? Una forma sencilla y ágil es utilizar los criterios de Goldman et al. confrontando las diferentes categorías diagnósticas y estableciendo dos tipos de discrepancias: discrepancias mayores (englobarían las Clases I y II) y discrepancias menores (englobarían las Clases III y IV).

- **Clase I.** Discrepancia en un diagnóstico primario o principal, cuyo diagnóstico correcto hubiera posibilitado un tratamiento que pudiera haber prolongado la vida del paciente (o curado).
- **Clase II.** Discrepancia en un diagnóstico primario o principal, cuyo diagnóstico en vida no hubiera modificado la supervivencia, incluso con tratamiento correcto.
- **Clase III.** Discrepancias en un diagnóstico secundario o menor, no relacionado con la causa de muerte, pero con síntomas que deberían haber sido tratados o bien podrían haber afectado al pronóstico.
- **Clase IV.** Discrepancias en diagnósticos menores ocultos, no diagnosticables, de posible importancia epidemiológica o genética.
- **Clase V.** Diagnósticos no discrepantes.

Sería deseable realizar sesiones conjuntas transversales multidisciplinares en aquellos casos de discrepancias de clase I y II.

BIBLIOGRAFÍA

Tipos de autopsia: Autopsia clínica y autopsia médico legal

1. Aguilera B, Cohen MC, Galtés I, Garamendi PM, Irigoyen J, Lucena J, Molina P, Morentín B, Suárez MP. Patología forense en España. De dónde venimos y hacia dónde vamos. Libro Blanco 2013 de la Anatomía Patológica en España. pp 319-46. Disponible en: http://www.seap.es/documents/10157/447954/Libro_Blanco_Anat_Patologica_2013.pdf
2. CAP. Criteria for autopsies. Disponible en: http://www.cap.org/apps/docs/pathology_reporting/AutopsyCriteria.pdf
3. Normas para la preparación y remisión de muestras objeto de análisis por el Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses. Disponible en <http://boe.es/boe/dias/2010/05/19/pdfs/BOE-A-2010-8030.pdf>

Indicaciones de la autopsia clínica

4. CAP. Criteria for autopsies. Disponible en: http://www.cap.org/apps/docs/pathology_reporting/AutopsyCriteria.pdf
5. Fernández F, Estébanez A, Mayorga M, Guerra I. Objetivos e indicaciones de la autopsia clínica. REMI 2004; 11(4). Disponible en: <http://remi.uninet.edu/2004/01/REMIA011i.htm>

6. Hutchins GM (ed.). *Autopsy Performance & Reporting*. Northfield, Ill: College of American Pathologists, 1990.
7. Real Decreto 2230/1982, de 18 de junio, sobre autopsias clínicas. BOE 218 de 11 de septiembre de 1982, pp. 24599-600. Disponible en: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-1982-22965
8. Zarbo RJ, Baker PB, Howanitz PJ. The autopsy as a performance measurement tool--diagnostic discrepancies and unresolved clinical questions: a College of American Pathologists Q-Probes study of 2479 autopsies from 248 institutions. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123:191-8.

Requisitos para realizar una autopsia clínica

9. Fernández F, Val-Bernal JF. La autopsia clínica. *Rev Esp Pathol* 1999; 32: 187-9.
10. Ley 29/1980, de 21 de junio, de autopsias clínicas. BOE 154 de 27 de junio de 1980, págs. 14636-7. Disponible en: http://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-1980-13662
11. Real Decreto 2230/1982, de 18 de junio, sobre autopsias clínicas. BOE 218 de 11 de septiembre de 1982, págs. 24599-600. Disponible en https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-1982-22965

Procedimiento normalizado de trabajo. Autopsia general

12. Collins KA, Hutchins GM. *Autopsy Performance & Reporting*, 2nd ed., CAP Press., Illinois, 2003.
13. Collins KA, Hutchins GM and College of American Pathologists Autopsy Committee. *An Introduction to Autopsy Technique*. 2nd ed. CAP Press, Illinois, 2005.
14. Collins KA. *Special Autopsy Dissections. Step-by-step Diagrams*. CAP Press, Illinois, 2010.
15. Cotton DWK, Cross SS. *The hospital autopsy*. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, 1993.
16. Fariña J, Millana C, Fernández-Aceñero MJ, Furió V, Aragoncillo P, Martín VG, Buencuerpo J. Ultrasonographic autopsy (echopsy): a new autopsy technique. *Virchows Arch*.2002; 440:635–9.
17. Finkbeiner WE, Ursell PC, Davis RL. *Autopsy Pathology. A manual and atlas*. 2nd ed. Saunders Elsevier Inc., Philadelphia, 2009.
18. Guerra I, Ortiz E, Portu J, Atarés B, Aldamiz-Etxebarria M, De Pablos M. Value of limited necropsy in HIV-positive patients. *Pathol Res Pract* 2001; 197:165-8.
19. Kubat K, Smedts F: The usefulness of the lactate dehydrogenase macroreaction in autopsy practice. *Mod Pathol* 1993; 6:743-7.
20. Lester SC. *Manual of Surgical Pathology*. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2001.
21. Ludwig, J. *Current method of Autopsy Practice*, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1972.
22. Ludwig J. *Handbook of Autopsy Practice*.3rd ed. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2002.
23. Rosai J. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*.10th ed. Elsevier Inc., New York,2011.

Procedimiento normalizado de trabajo. Autopsia cardiovascular

24. Basso C, Burke M, Fornes P, Gallagher PJ, de Gouveia RH, Sheppard M, et al. Guidelines for autopsy investigation of sudden cardiac death. *Virchows Arch*. 2008; 452:11-8.
25. Bradshaw SH, Kennedy L, Dexter DF, Veinot JP. A practical method to rapidly dissolve metallic stents. *Cardiovasc Pathol*. 2009; 18:127–133.
26. Burke A, Tavora F. Techniques and approach to cardiovascular pathology. In: *Practical cardiovascular pathology: an atlas*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 3-11.
27. Kitzman DW, Scholz DG, Hagen PT, et al. Age-related changes in normal human hearts during the first 10 decades of life. Part II (Maturity): A quantitative anatomic study of 765 specimens from subjects 20 to 99 years old. *Mayo Clin Proc* 1988; 63:137-46.
28. Mont E, Cresswell N, Burke A. Pathologic findings of coronary stents: A comparison of sudden coronary death versus non-cardiac death. *J Forensic Sci*. 2013; 58:1542-8.
29. Morentin B, Suárez Mier MP, Aguilera B. Muerte súbita cardiaca en niños y jóvenes. *Rev Esp Med Legal* 2009; 35:59-69.

30. Oliva A, Brugada R, D'Aloja E, Boschi I, Partemi S, Brugada J, et al. State of the art in forensic investigation of sudden cardiac death. *Am J Forensic Med Pathol.* 2011; 32:1-16.
31. Schoen FJ. Approach to the analysis of cardiac valve prostheses as surgical pathology or autopsy specimens. *Cardiovasc Pathol* 1995; 4:241-55.
32. Sheppard MN. Approach to the cardiac autopsy. *J Clin Pathol.* 2012; 65:484-95.
33. Stone JR, Basso C, Baandrup UT, et al. Recommendations for processing cardiovascular surgical pathology specimens: a consensus statement from the standards and definitions committee of the Society for Cardiovascular Pathology and the European Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol* 2012; 21:2-16.
34. Suárez-Mier MP, Aguilera B. Methodological approach to cardiac autopsy. En: Lucena JS, García-Pavía P, Suárez-Mier MP, Alonso-Pulpón L, editores. *Clinico-pathological atlas of cardiovascular diseases.* Springer; 2015. p: 1-30.
35. Suárez-Mier MP, Fernández-Lozano. Pathology of the cardiac conduction system. En: Lucena JS, García-Pavía P, Suárez-Mier MP, Alonso-Pulpón L, editores. *Clinico-pathological atlas of cardiovascular diseases.* Springer; 2015. p:265-297. DOI 10.1007/978-3-319-11146-9_10, © Springer International Publishing Switzerland 2015.
36. The Royal College of Pathologists' Working Party on the autopsy. Guidelines on autopsy practice: Scenario 1: Sudden death with likely cardiac disease. London, Royal College of Pathologists; 2005.
37. Veinot JP, Ghadially FN, Walley VM. Light microscopy and ultrastructure of the blood vessels and heart. In: Silver MD, Gotlieb AI, Schoen FJ, eds. *Cardiovascular pathology.* Philadelphia: Churchill Livingstone, 2001:30-53.

Procedimiento normalizado de trabajo. Prionopatías

38. Bell JE, Alafuzoff I, Al-Sarraj S, Arzberger T, Bogdanovic N, Budka H, et al. Management of a twenty-first century brain bank: experience in the BrainNet Europe consortium. *Acta Neuropathol.* 2008; 115:497-507.
39. Bell JE, Ironside JW. How to tackle a possible Creutzfeldt-Jakob disease necropsy. *J Clin Pathol.* 1993; 46:193-7.
40. Bradford BM, Piccardo P, Ironside JW, Mabbott NA. Human prion diseases and the risk of their transmission during anatomical dissection. *Clin Anat.* 2014; 27:821-32.
41. Brown P, Gibbs CJ, Jr., Amyx HL, Kingsbury DT, Rohwer RG, Sulima MP, et al. Chemical disinfection of Creutzfeldt-Jakob disease virus. *N Engl J Med.* 1982; 306:1279-82.
42. Budka H, Aguzzi A, Brown P, Brucher JM, Bugiani O, Collinge J, et al. Tissue handling in suspected Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases). *Brain Pathol.* 1995; 5:319-22.
43. Cali I, Castellani R, Alshekhlee A, Cohen Y, Blevins J, Yuan J, et al. Co-existence of scrapie prion protein types 1 and 2 in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: its effect on the phenotype and prion-type characteristics. *Brain.* 2009; 132:2643-58.
44. Capellari S, Strammiello R, Saverioni D, Kretzschmar H, Parchi P. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease and fatal familial insomnia: insights into phenotypic variability and disease pathogenesis. *Acta Neuropathol.* 2011; 121:21-37.
45. Coitinho Azevedo CARA, H. Bioseguridad microbiológica en la sala de autopsias. *Gac int cienc forense* 2013; 9.
46. DeArmond SJ, Prusiner SB. Perspectives on prion biology, prion disease pathogenesis, and pharmacologic approaches to treatment. *Clin Lab Med.* 2003; 23:1-41.
47. Evans EK, Tester R, Aslanian S, Karp R, Sheets M, Labenski MT, et al. Inhibition of Btk with CC-292 provides early pharmacodynamic assessment of activity in mice and humans. *J Pharmacol Exp Ther.* 2013; 346:219-28.

48. Fernandez-Vega I, Ruiz-Ojeda J, Juste RA, Geijo M, Zarranz JJ, Sanchez Menoyo JL, et al. Coexistence of mixed phenotype Creutzfeldt-Jakob disease, Lewy body disease and argyrophilic grain disease plus histological features of possible Alzheimer's disease: A multi-protein disorder in an autopsy case. *Neuropathology*. 2015; 35:56-63.
49. Ferrer I. [Prion diseases. Pathogenic mechanisms]. *Med Clin (Barc)*. 2001; 117:52-5.
50. Gambetti P, Kong Q, Zou W, Parchi P, Chen SG. Sporadic and familial CJD: classification and characterisation. *Br Med Bull*. 2003; 66:213-39.
51. Ironside JW, Bell JE. The 'high-risk' neuropathological autopsy in AIDS and Creutzfeldt-Jakob disease: principles and practice. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1996; 22:388-93.
52. Kovacs GG, Seguin J, Quadrio I, Hoftberger R, Kapas I, Streichenberger N, et al. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease associated with the E200K mutation: characterization of a complex proteinopathy. *Acta Neuropathol*. 2011; 121:39-57.
53. Leunda A, Van Vaerenbergh B, Baldo A, Roels S, Herman P. Laboratory activities involving transmissible spongiform encephalopathy causing agents: risk assessment and biosafety recommendations in Belgium. *Prion*. 2013; 7:420-33.
54. Liberski PP. Gerstmann-Straussler-Scheinker disease. *Adv Exp Med Biol*. 2012; 724:128-37.
55. May BC, Govaerts C, Prusiner SB, Cohen FE. Prions: so many fibers, so little infectivity. *Trends Biochem Sci*. 2004; 29:162-5.
56. Montagna P, Gambetti P, Cortelli P, Lugaresi E. Familial and sporadic fatal insomnia. *Lancet Neurol*. 2003; 2:167-76.
57. Notari S, Strammiello R, Capellari S, Giese A, Cescatti M, Grassi J, et al. Characterization of truncated forms of abnormal prion protein in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Biol Chem*. 2008; 283:30557-65.
58. Parchi P, Capellari S, Chin S, Schwarz HB, Schechter NP, Butts JD, et al. A subtype of sporadic prion disease mimicking fatal familial insomnia. *Neurology*. 1999; 52:1757-63.
59. Parchi P, Cescatti M, Notari S, Schulz-Schaeffer WJ, Capellari S, Giese A, et al. Agent strain variation in human prion disease: insights from a molecular and pathological review of the National Institutes of Health series of experimentally transmitted disease. *Brain*. 2010; 133:3030-42.
60. Parchi P, de Boni L, Saverioni D, Cohen ML, Ferrer I, Gambetti P, et al. Consensus classification of human prion disease histotypes allows reliable identification of molecular subtypes: an inter-rater study among surveillance centres in Europe and USA. *Acta Neuropathol*. 2012; 124:517-29.
61. Parchi P, Giese A, Capellari S, Brown P, Schulz-Schaeffer W, Windl O, et al. Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol*. 1999; 46:224-33.
62. Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JP, Ladogana A, et al. Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrPSc types: an updated classification. *Acta Neuropathol*. 2009; 118:659-71.
63. Prusiner SB. *The prion diseases of human and animals*. Boston, Oxford, Johannesburgo, Melbourne, Nueva Delhi, Singapur: Butterworth-Heinemann, 1997.
64. Prusiner SB. Prion diseases and the BSE crisis. *Science*. 1997; 278:245-51.
65. Rene R, Campdelacreu J, Ferrer I, Escrig A, Povedano M, Gascon-Bayarri J, et al. Familial Creutzfeldt-Jakob disease with E200K mutation presenting with neurosensorial hypoacusis. *BMJ Case Rep*. 2009; 2009.
66. Rodriguez-Martinez AB, Garrido JM, Zarranz JJ, Arteagoitia JM, de Pancorbo MM, Atares B, et al. A novel form of human disease with a protease-sensitive prion protein and heterozygosity methionine/valine at codon 129: Case report. *BMC Neurol*. 2010;10:99.
67. Rupperecht S, Grimm A, Schultze T, Zinke J, Karvouniari P, Axer H, et al. Does the clinical phenotype of fatal familial insomnia depend on PRNP codon 129 methionine-valine polymorphism? *J Clin Sleep Med*. 2013; 9:1343-5.

68. Samarasekera N, Al-Shahi Salman R, Huitinga I, Klioueva N, McLean CA, Kretschmar H, et al. Brain banking for neurological disorders. *Lancet Neurol.* 2013; 12:1096-105.
69. Zaborowski A, Kordek R, Botts GT, Liberski PP. Immunohistochemical investigations of the prion protein accumulation in human spongiform encephalopathies. Special report II. *Pol J Pathol.* 2003;54:39-47.

Procedimiento normalizado de trabajo. SNC. Estudios especiales

70. Collins, KM y Hutchins GM. *Autopsy performance and reporting* 2nd ed. 2003.
71. Esiri, MM. *Openheimer's Diagnostic neuropathology* 2nd ed. 1996 Blackwell Science UK
72. Gray F et al (eds) *Escourolle & Poirier Manual of Basic Neuropathology* 4th ed. Butterwoth Einemann Philadelphia PA USA. 2010.
73. Guidelines on autopsy practice. 2002. Disponible en: http://www.rcpath.org/NR/rdonlyres/412AEB13-F5B8-4C6B-A087-2833223C7A4D/0/main_document.pdf
74. Kurian KM et al. *Atlas of gross neuropathology* 2014 Cambridge University Press. Cambridge UK
75. Waters, BL. *Handbook of autopsy practice* 4th ed. 2014 Humana Press Northfield, Ill USA

Procedimiento normalizado de trabajo. Banco de tejidos neuropatológico

76. Ervin JF. Chapter 2 Banking Tissue for Neurodegenerative Research. *Neuroproteomics*. Edited by Oscar Alzate. CRC Press 2009
77. BrainNet Europe (BNE). Protocols. Disponible en: <http://www.brainnet-europe.org/deBrainNetEurope> y en http://www.brainnet-europe.org/index.php?option=com_content&view=article&id=99&Itemid=99

Autopsia fetal y perinatal

78. Arce FP. La autopsia fetal. En Libro Blanco 2013 de la Anatomía Patológica en España. pp. 241-249. Disponible en: http://www.seap.es/documents/10157/447954/Libro_Blanco_Anat_Patologica_2013.pdf
79. Archie JG, Collins JS, Lebel RR. Quantitative standards for fetal and neonatal autopsy. *Am J Clin Pathol* 2006; 126:256-65.
80. Barfield WD. Clinical reports. Standard terminology for fetal, infant and perinatal deaths. *Pediatric.* 2011; 128:177-181.
81. De Agustín Asensio JC. Estado actual de la cirugía fetal: evidencias y experiencias. *Evid Pediatr* 2011; 7:28.
82. De la Campa et al 1993. (Asturias, ESPAÑA). Protocolo de autopsia perinatal. Disponible en: http://eusalud.uninet.edu/cl_autopsias/Documentos/Protocol/Protocol.htm
83. Desilets V, Oligny LL. Fetal and perinatal autopsy in prenatally diagnosed fetal abnormalities with normal karyotype. *J Obstet Gynaecol Can* 2011; 33:1047-1057.
84. Guihard-Costa A, Menez F, Delezoide AL. Standards for dysmorphological diagnosis in human fetuses. *Pediatr Dev Pathol.*2003; 6:427-434.
85. Heller DS, Faye-Peersen OM. Pathology of the stillborn infant for the general pathologist: Part 1. *Adv Anat Pathol*, 2015; 22:1-27.
86. International Statistical Classification of Diseases and related Health problems, tenth Revision (ICD 10). Vol 2. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
87. Keeling JW(Ed). *The perinatal necropsy. Fetal and neonatal Pathology*, Springer-Verlag. Berlin, 1987, p.4, p.26.
88. Nikkels PG, Hacj KE, Gemert MJC. Pathology of twin placentas with special attention to monochorionic twin placentas. *J Clin Pathol*, 2008; 61:1247-1253.
89. Razquin S, Gamallo C, Madero R, Rodríguez JI, Suarez A, Redondo E, Palacios J, León L. Mortalidad fetal y neonatal inmediata. Estudio de 480 autopsias (II) Infecciones. *Patología* 1985, supl: 360.
90. Stocker & Dehner's *Pediatric Pathology*, 3rd ed., J. Thomas Stocker, Dehner Louis P, and Husain Aliya N. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2011.
91. Urioste M. Chromosome culture from human cartilage. *Am J Med Genet* 1993; 46:123-125.

Informe anatomopatológico de autopsia

92. Fernández F, Estébanez A, Mayorga M, Guerra I. Objetivos e indicaciones de la autopsia clínica. REMI 2004; 11(4). Disponible en: <http://remi.uninet.edu/2004/01/REMIA011i.htm>
93. Goldman L, Sayson R, Robbins S, Cohn LH, Bettman M, Weisberg M. The value of the autopsy in three medical eras. New Engl. J.Med. 1980; 308;1000–5.
94. Hutchins GM, Berman JJ, Moore GW, Hanzlick R, Autopsy Committee of the College of American Pathologists. Practice guidelines for autopsy pathology. Autopsy reporting. Arch Pathol Lab Med 1999; 123:1085- 92.
95. Siebert JR. Increasing the efficiency of autopsy reporting. Arch Pathol Lab Med 2009; 133:1932-7.

Legislación sobre autopsias. Seguridad y salud laboral en autopsias

96. Foro temático del Club de Autopsias de la SEAP. Disponible en: http://eusalud.uninet.edu/cl_autopsias/Forostem/foros.htm
97. García B, López M. Legislación que rige las autopsias en España. REA 2008; 6:19-31. Disponible en: <http://rea.uninet.edu/index.php/ejautopsy/article/view/32/32>
98. Selva A, Garrido JA, Segura JM, González T, Solís E. Seguridad y salud laboral en autopsias. REA 2008; 6:32-41. Disponible en: <http://rea.uninet.edu/index.php/ejautopsy/article/view/33>

ANEXOS:

Han participado en la elaboración de estos documentos, además de los autores del manuscrito, los siguientes profesionales: JM Corral, Servicio Anatomía Patológica, Hospital de Laredo (Cantabria); JR de Miguel, Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Valdecilla, Santander; ML Lassalle, Subdirección Médica 061-SUAP, Gerencia de Atención Primaria, Servicio Cántabro de Salud; M Martino, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Valdecilla, Santander; S Montes, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Valdecilla, Santander; ME Vega, Adjunta Dirección Médica, Hospital Valdecilla, Santander; P Villa, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Sierrallana, Torrelavega (Cantabria). A todos ellos, nuestro más sincero agradecimiento.

I.- Modelo de **petición de estudio autopsico**. Recoge un **resumen de la historia clínica** (a rellenar por el clínico), los **problemas clínicos** que se espera sean resueltos con la autopsia, las **causas de muerte de sospecha**, así como **otros datos de la historia clínica** que puedan ser de interés (a rellenar por el patólogo). Este documento puede ayudar a orientar la autopsia a la **“solución de problemas”** y a confrontar los diagnósticos clínicos y anatomopatológicos para una más correcta evaluación de la **concordancia clínico-patológica**.



SERVICIO CÁNTABRO DE SALUD
HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA
Santander

Dr/Dra
SERVICIOPlanta.....
CENTRO

Enviar resultado a:

Dr(s)/Dra(s) _____
SERVICIO(S) _____
PLANTA _____
CENTRO _____

PETICIÓN DE ESTUDIO AUTÓPSICO

*Espacio reservado para la etiqueta de
IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE*

*Espacio reservado para la etiqueta de
ANATOMÍA PATOLÓGICA*

RIESGO BIOLÓGICO: SI NO
TIPO

ADJUNTAR A LA PETICIÓN DE AUTOPSIA:

- AUTORIZACIÓN DE NECROPSIA
- HISTORIA CLÍNICA COMPLETA

RESUMEN DE LA HISTORIA (en las autopsias judiciales indicar también datos conocidos de enfermedades previas y circunstancias que rodearon a la muerte)

Documento no perteneciente a la Historia Clínica

II.- Modelo de **petición de estudio anatomopatológico de autopsia fetal y perinatal.**



Hospital Universitario La Paz

Comunidad de Madrid

SERVICIO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

Cód. 007148

PETICION DE ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO EN RECIEN NACIDOS MUERTOS

Datos de la madre:

Nombre y Apellidos:

Número de Historia Clínica:

Planta:

Edad: Edad del padre:

EMBARAZOS PREVIOS:

	Fecha	E.C.	Sexo	Peso	Parto	Evolución
1.						
2.						
3.						
4.						
5.						

EMBARAZO ACTUAL:

Fecha última regla:

Fecha probable del parto:

E.G.:

Control: Ambulatorio / Hospitalario

Grupo sanguíneo:

Amenaza de aborto: SI / NO

Amniocentesis: SI / NO

ECO: SI / NO

Normal / Patológico

Observaciones:

Polihidramnios: SI / NO

Oligoamnios: SI / NO

Hipertensión: SI / NO

Preeclamsia: SI / NO

Diabetes: SI / NO

Tratamiento: SI / NO

Crecimiento intrauterino retardado: SI / NO

Fiebre materna: SI / NO

Tratamiento: SI / NO

Hemorragia anteparto: SI / NO

PARTO:

Inducción: espontáneo / inducido / cesárea

Fecha rotura membranas:

Líquido: cantidad:

color:

Presentación: cefálica / nalgas / otras

Fecha del parto:

Placenta: normal / patológica

cordón:

CAUSAS SOSPECHADAS DE MUERTE FETAL:

- 1.—
- 2.—
- 3.—
- 4.—

Fecha:

Médico encargado,

III.- Modelo de “**parte de defunción**” (**certificado de muerte cierta**) en ausencia del “certificado ordinario de defunción”.



PARTE DE DEFUNCIÓN MUERTES NATURALES

D/D^a

Colegiado nº..... licenciado/a en Medicina y Cirugía, medico/a de Atención Primaria o del Servicio 061 de Cantabria,

COMUNICA que a las.....horas del día de la fecha, reconocí cadáver en.....
a
 D/D^a....., con D.N.I.,
 nº....., de.....años de edad, con domicilio en
 provincia.....
 calle/plaza....., nº....., piso....., letra/nº
 fallecido de muerte natural cuyas causas de defunción se desconocen /
 se conocen, y en el que no se evidencian signos de violencia ni sospecha de criminalidad.

OTROS DATOS DE INTERÉS

Derivación a Servicio de Anatomía Patológica: Si No
 Certificado de defunción: Adjunto Pendiente

Lo que se informa para su conocimiento y efectos oportunos.

....., a.....de.....de.....
 (firma)

PARTE DE DEFUNCIÓN

Correo electrónico:
buzgen0.gap@scsalud.es

Avda Cardenal Herrera Oria, s/n
 39011 Santander
 Teléfono.: 942 20 27 00
 FAX: 942 20 34 04

IV.- Modelo de "autorización de necropsia" (anverso y reverso).

<p style="text-align: center;">SERVICIO CÁNTABRO DE SALUD HOSPITAL UNIVERSITARIO MARQUÉS DE VALDECILLA DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Santander</p> <p style="text-align: center;">AUTORIZACION DE NECROPSIA</p>	<p><i>Espacio reservado para la etiqueta de IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE</i></p>		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">ESTADÍSTICA DE AUTOPSIAS</p> <p>Servicio al que está adscrito el paciente _____</p> <p>Médico(s) responsable(s) _____</p> </td> <td style="padding: 5px; text-align: center;"> <p><i>Espacio reservado para la etiqueta de ANATOMÍA PATOLÓGICA</i></p> </td> </tr> </table>	<p style="text-align: center;">ESTADÍSTICA DE AUTOPSIAS</p> <p>Servicio al que está adscrito el paciente _____</p> <p>Médico(s) responsable(s) _____</p>	<p><i>Espacio reservado para la etiqueta de ANATOMÍA PATOLÓGICA</i></p>	<p>Fecha del fallecimiento Hora</p>
<p style="text-align: center;">ESTADÍSTICA DE AUTOPSIAS</p> <p>Servicio al que está adscrito el paciente _____</p> <p>Médico(s) responsable(s) _____</p>	<p><i>Espacio reservado para la etiqueta de ANATOMÍA PATOLÓGICA</i></p>		
<p>Familiar/Responsable legal</p> <p>D./Dña.</p> <p>con D.N.I. n.º, en calidad de</p> <p>con domicilio en</p> <p style="margin-left: 40px;">Población Ayuntamiento</p> <p style="margin-left: 40px;">Provincia Código Postal</p> <p style="margin-left: 40px;">Calle N.º Piso</p> <p style="margin-left: 40px;">Teléfono</p>			
<p>AUTORIZA al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla" a realizar el examen postmortem a</p>			
<p>...</p> <p>Manifiesto que, tras haber leído este documento (ejemplar para el familiar con información en el reverso), y haber satisfecho todas mis dudas al respecto Me considero adecuadamente informado/a por el/la Dr/Dra.....</p> <p>Por tanto, tras el adecuado periodo de reflexión:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Doy mi CONSENTIMIENTO voluntario para la realización de la AUTOPSIA - Entiendo que este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento - Y que si lo considero, puedo solicitar más información 			
<p style="text-align: center;">Santander, a.....de.....de 2.00..</p> <p>Firma del familiar Firma del Médico</p> <p>o del Representante Legal (cuando por Ley proceda)</p>			

Información al familiar o representante legal que autoriza el examen postmortem

- La autopsia clínica consiste en estudiar las alteraciones morfológicas de los órganos y tejidos provocadas por la enfermedad. Determina, por tanto, la naturaleza y extensión de la misma, comprueba los resultados del tratamiento médico o quirúrgico e investiga el posible componente contagioso, hereditario o transmisible. El Hospital garantiza un trato correcto y respetuoso al cuerpo del fallecido, empleando, para realizar la autopsia, técnicas que no producen desfiguraciones externas.
- Usted recibirá en su domicilio un informe completo y detallado del resultado de la autopsia con:
 - a) El padecimiento fundamental.
 - b) Todos los hallazgos principales, secundarios y accesorios.
 - c) La causa de muerte.
- La autopsia clínica se realiza en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla", por Médicos Especialistas. Allí podrá recabar la información adicional que necesite (tiempo de autopsia, disponibilidad del cadáver, tiempo de emisión del informe definitivo, etc.).
- Como norma, por motivos estéticos y funcionales, a todo paciente que se le practica la autopsia, se le pone un sudario.
- La realización del estudio autópsico y el traslado del cadáver que sea necesario para la práctica de la autopsias no serán en ningún caso gravosos económicamente para la familia del fallecido (Art. 2.1 de la Ley 29/1980 y art. 4.1 del Real Decreto 2230/1982).
- Le agradeceríamos que cualquier queja o sugerencia la haga llegar a:
 - Dpto. de Anatomía Patológica
 - Sección de Autopsias
 - Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla"
 - Avda. de Valdecilla s/n.
 - 39008 SANTANDER

V.- Modelo de **consentimiento informado de estudio necrópsico fetal y destino posterior de los restos fetales.**

Pág. 1/2

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>  <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	1º APELLIDO _____ 2º APELLIDO _____ NOMBRE _____
	<p>ANATOMÍA PATOLÓGICA.</p> <p>HISTORIA CLÍNICA / CIP</p>
<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO: CONSENTIMIENTO ESTUDIO NECRÓPSICO Y DESTINO DE LOS RESTOS.</p>	

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La muerte fetal es la muerte anterior a la completa expulsión o extracción de un producto de concepción con independencia de la duración del embarazo. Todas las muertes de fetos de menos de 22 semanas de gestación (corresponden aproximadamente a un peso de 500 gr. o menos) se corresponden a una fase temprana de muerte, es decir, a un aborto. Los fetos muertos a partir de la 22 semana de gestación corresponden a muertes fetales intermedias (de la 22 a la 28 semanas) y muertes fetales tardías (a partir de 24 o 28 semanas de gestación).

EN QUE CONSISTE: se extraerán pequeñas muestras de los tejidos para que los facultativos del departamento de Anatomía Patológica y Citología puedan estudiarlos con detenimiento. Una vez extraídas las muestras, se reconstruirá el cuerpo hasta lograr su apariencia inicial garantizándose que en ningún caso supondrá una carga económica o burocrática para sus familiares.
Destino posterior:

- Como norma interna, los fetos de menos de 180 días de gestación (o 25 semanas de edad gestacional) se procesarán como el resto de residuos biológicos del hospital.
- Para los fetos de más de 180 días de gestación (25 semanas de edad gestacional) de los que se haga cargo el hospital, se organizarán los procedimientos adecuados para su enterramiento o incineración.
- Los fetos de más de 180 días de gestación (25 semanas de edad de gestación), cuyos familiares deseen expresamente hacerse cargo de su destino, enterramiento o incineración, podrán acogerse a este derecho siempre y cuando lo tramiten legalmente a través de una funeraria.

Le entregamos una hoja informativa para que usted valore autorizar la incorporación de las muestras de tejido que sobren, de otros derivados, datos clínicos y epidemiológicos asociados, al Biobanco Valdecilla.

BENEFICIO: El estudio anatomopatológico de los fetos es muy importante porque puede ayudar a esclarecer las causas de la muerte (causas maternas, causas fetales y causas placentarias). Otras veces corrobora o complementa los diagnósticos realizados previamente en el útero de la madre.

RIESGOS QUE SE PUEDEN PRESENTAR: Ninguno.
RIESGOS PERSONALIZADOS: Ninguno.
CONTRAINDICACIONES: Ninguna.
CONSECUENCIAS DE NO REALIZARLO: no se podrán esclarecer las causas de la muerte. Tampoco se podrán corroborar o complementar los diagnósticos realizados en el útero de la madre.
ALTERNATIVAS AL PROCEDIMIENTO: de momento no hay ninguna alternativa posible que sustituya al estudio anatomopatológico.

D/Dña _____ tras haber leído este documento, he comprendido las explicaciones que el médico me ha facilitado en un lenguaje claro y sencillo, he podido realizar cuantas observaciones he creído conveniente y el médico me ha resuelto todas las dudas que he planteado, estoy satisfecho con la información recibida y comprendo el alcance, los beneficios, las alternativas y los riesgos del procedimiento.

Entiendo que este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento antes de la realización del procedimiento sin que ello pueda suponer ningún perjuicio en la atención que se me preste, y que si lo considero puedo solicitar más información. En tales condiciones **CONSIENTO** que se realice el procedimiento propuesto.

En consecuencia:

SI NO doy mi consentimiento para realizar el estudio, expresando a continuación mi deseo del destino posterior:

Que se haga cargo el hospital del enterramiento o incineración.
 La familia se hace cargo del destino posterior (enterramiento o incineración) a través de la funeraria _____
 _____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Paciente. Firma: El/la Médico.
 Nombre del paciente, 1º apellido y 2º apellido. Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.

D/ Dña _____ con DNI _____ representante del paciente _____ doy mi consentimiento.
 Debe especificar parentesco y DNI.
 _____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Representante.
 Nombre del representante, 1º apellido y 2º apellido.

HC-102



CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>  <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	1º APELLIDO _____ 2º APELLIDO _____ NOMBRE _____
	HISTORIA CLINICA / CIP
<p>ANATOMÍA PATOLÓGICA.</p>	
<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO: CONSENTIMIENTO ESTUDIO NECRÓPSICO Y DESTINO DE LOS RESTOS.</p>	

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

Tras haber leído la información contenida en el otro documento que se me entrega ahora y se llama Consentimiento Informado de EXCEDENTE DE TEJIDO DIAGNÓSTICO/TERAPÉUTICO BIOBANCO VALDECILLA y haber reflexionado acerca de ello el tiempo necesario:

- Autorizo la incorporación de muestra excedente de tejido diagnóstico, de otros derivados y datos clínicos asociados al Nodo de Tejidos del Biobanco Valdecilla y su utilización posterior en proyectos certificados de investigación Biomédica.
SI _____ NO _____
- Autorizo ser contactado, en el caso de necesitar más información, por mi médico o por el responsable clínico que solicita la donación.
SI _____ NO _____
- Solicito que se me informe sobre los resultados referidos a mi salud derivados de estudios genéticos realizados sobre mi muestra biológica (siempre que la muestra no sea anonimizada).
SI _____ NO _____
- Si desea restringir el uso de esta muestra para algún proyecto en particular especifique a continuación para qué uso usted no desea que se utilicen su muestra y datos asociados: _____

Si autorizo la incorporación de las muestras de tejido que sobren al Nodo de Tejidos del Biobanco Valdecilla, sé que se harán 3 copias del presente consentimiento. Un ejemplar será custodiado en las instalaciones del Nodo de Tejidos del Biobanco Valdecilla (Nodo de _____), otro en este hospital y el tercer ejemplar es una copia que me será entregada.

SOLICITA QUE (por favor márquese una opción):

Las muestras y datos ESTÉN CODIFICADOS, lo que permitiría la posibilidad de que usted pueda, si lo desea, conocer los resultados de los estudios. Si así fuera:

Desea recibir información de los resultados genéticos, si los hubiera.

No desea recibir información de los resultados genéticos, si los hubiera.

_____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Paciente. Firma: El/la Médico.
Nombre del paciente, 1º apellido y 2º apellido. Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.

D/ Dña _____ con DNI _____ representante del paciente _____ doy mi consentimiento.
Debe especificar parentesco y DNI.

_____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Representante.
Nombre del representante, 1º apellido y 2º apellido.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

HC-102





CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

VI.- Modelo de consentimiento informado del excedente de tejido diagnóstico-terapéutico del biobanco.

Pág. 1/2

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>  <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	<p>1º APELLIDO _____</p> <p>2º APELLIDO _____</p> <p>NOMBRE _____</p>
	<p>ANATOMÍA PATOLÓGICA.</p> <p>HISTORIA CLÍNICA / CIP <input type="text"/></p>
<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO: CI EXCEDENTE DE TEJIDO DIAGNÓSTICO/TERAPÉUTICO BIOBANCO VALDECILLA.</p>	

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

HC-102

CONSENTIMIENTO INFORMADO

EN QUE CONSISTE: Este documento tiene como objeto solicitar su autorización escrita para la donación de las muestras excedentes de tejido diagnóstico y otros derivados (células, sangre, líquidos, mucosa bucal), para incorporarlas al Biobanco Valdecilla y poder utilizarlo posteriormente en Investigación Biomédica. Por favor, lea detenidamente esta información y tómese el tiempo necesario para decidir si está de acuerdo. Pregunte libremente al personal sanitario que le ha comunicado esta información cualquier duda que pueda tener.

1. FINALIDAD DEL BIOBANCO: El Biobanco es una unidad central de investigación biomédica que tiene como objetivo registrar, almacenar, procesar y proveer de muestras humanas y datos clínicos asociados en condiciones de estricto control de calidad y confidencialidad (de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación vigente relativa a la investigación biomédica: LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica y Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre). Así mismo, se garantiza el respeto a la calidad de los proyectos de investigación biomédica y el respeto a la dignidad de las personas durante su consecución, en cumplimiento de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. Estas muestras y datos, debidamente almacenados se ceden parcialmente a los distintos grupos de investigación solicitantes (nacionales o internacionales) que acrediten su capacidad de hacer uso de los mismos de acuerdo con la Ley de investigación Biomédica vigente.

2. PROCEDIMIENTO DE DONACIÓN: La principal vía de obtener los tejidos que permitan la investigación biomédica son las muestras excedentes de las extracciones que se hacen con fines diagnósticos y terapéuticos. Parte de la muestra de tejido, células o sangre ya no es necesaria para establecer un diagnóstico y por ello, es normalmente destruida. Usted puede donar el excedente de su muestra para que, en lugar de ser destruido, pueda ser utilizado en investigación biomédica, quedando incorporada la muestra a un Biobanco. Por definición la muestra excedente no compromete el análisis y beneficios para el paciente de la muestra que se ha extraído para diagnóstico o tratamiento. No obstante, tanto los responsables del Biobanco como del servicio de Anatomía Patológica se asegurarán de que los fines asistenciales (diagnósticos y/o terapéuticos) no se vean comprometidos por la incorporación de la muestra a Biobanco, quedando siempre un remanente de la muestra diagnóstica para futuras revisiones diagnósticas y estudios especiales.

3. CARACTER ALTRUISTA DE LA DONACION: La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otros individuos.

4. BENEFICIO: autorizándolo usted permitirá a los investigadores disponer de tejido, células y/o sangre para que puedan desarrollar avances en el terreno del conocimiento sobre la enfermedad, en particular sobre su aparición, diagnóstico, tratamiento adecuado y evolución.

RIESGOS QUE SE PUEDEN PRESENTAR: la autorización no supone para usted ningún riesgo o molestia adicional ya que únicamente va a autorizar la incorporación de la muestra a un Biobanco. La donación de este sobrante de tejido y los datos asociados es voluntaria por lo que, si usted da el consentimiento para su uso, en cualquier momento puede revocarlo. En caso de producirse esta revocación ello no supondrá ningún cambio en la relación con su médico ni perjuicio alguno en su diagnóstico /tratamiento y/o seguimiento. En caso de revocación su muestra dejará de formar parte de la investigación aunque los datos obtenidos hasta ese momento sí formarán parte de la misma. Igualmente usted puede incluir alguna restricción al uso de sus muestras, especificándolo en el formulario adjunto.

RIESGOS PERSONALIZADOS: No existen riesgos personalizados.

CONTRAINDICACIONES: No existen contraindicaciones.

CONSECUENCIAS DE NO REALIZARLO: Si usted decide no realizarlo, la muestra no podrá ser utilizada en investigación biomédica.

ALTERNATIVAS AL PROCEDIMIENTO: Actualmente, no existen otras alternativas a la que se le ha propuesto.

PROTECCIÓN DE DATOS Y CONFIDENCIALIDAD: Los datos personales que se recojan sobre Usted, serán confidenciales y procesados de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación vigente relativa a la Investigación Biomédica, tratándose los mismos únicamente de acuerdo con los objetivos descritos en el presente documento, por lo que cualquier relación entre la muestra y su identidad personal tienen carácter estrictamente confidencial. Los resultados obtenidos de los diferentes estudios llevados a cabo con las muestras, pueden ser publicados en revistas científicas, pero nunca será facilitada su identidad o datos que le identifiquen o puedan llegar a identificarle.

En el momento que usted consienta el uso de excedente de muestra para los fines de investigación aplicada descritos, dicho excedente será sometido a un proceso de disociación. Es decir, sólo será identificado por un número y/o un código constando todos sus datos personales y clínicos debidamente codificados, por lo que los investigadores implicados nunca conocerán su identidad o dato alguno que pudiera llegar a identificarle; sin embargo, los mismos, sí podrán en todo caso acceder a otros datos como su sexo o edad, pero siempre manteniendo la debida confidencialidad conforme a la legislación vigente. Los archivos con identificación serán de acceso restringido y controlado al personal de Biobanco.

Sus datos personales serán incorporados a un fichero automatizado de carácter confidencial, debidamente inscrito en la Agencia Española de Protección de Datos, conforme a los términos establecidos en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, cuya titularidad corresponde al Biobanco Valdecilla, con la finalidad de gestionar el uso del excedente cedido por usted para los fines de investigación descrito en el presente documento.

Usted puede ejercer en cualquier momento, los derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición, reconocidos por la normativa anteriormente citada. Si desea hacerlo, puede solicitar información a su responsable clínico para que le explique cómo actuar.

En caso de producirse un eventual cierre del Biobanco la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica con el fin de que usted pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras.

Por este consentimiento, el responsable del fichero del Biobanco podrá consultar su historial clínico en el momento del registro de las muestras en el Biobanco y en el caso que sea necesario actualizar la información asociada a sus muestras.

4. INFORMACIÓN SOBRE RESULTADOS DEL ESTUDIO: Los datos que se obtengan del análisis de la muestra serán archivados, y formarán parte del estudio / proyecto de investigación en el que se utilicen las muestras, manteniéndose durante el desarrollo del mismo. Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para Ud. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser tanto clínica



CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>  <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	1º APELLIDO _____ 2º APELLIDO _____ NOMBRE _____
	<p>ANATOMÍA PATOLÓGICA.</p> <p>CONSENTIMIENTO INFORMADO: CI EXCEDENTE DE TEJIDO DIAGNÓSTICO/TERAPÉUTICO BIOBANCO VALDECILLA.</p>

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO

como genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados, si así lo estima oportuno. Asimismo, podría obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de esta hoja. El Biobanco y la persona responsable de la colección o proyecto de investigación tendrán a disposición del donante toda la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilice la muestra. El Comité de Ética externo del Biobanco o el Comité de Ética de la Investigación que evaluó el proyecto de investigación decidirán en qué casos será imprescindible que se envíe la información de manera individualizada. Si desea más Información sobre este proceso puede contactar con el responsable del nodo de tejidos del Biobanco Valdecilla: Dr. Santiago Montes Moreno, en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Avda de Valdecilla 25, 39008. Tel: (34) 942203492 o en la siguiente dirección de correo electrónico: m362@humv.es

Al firmar en el consentimiento informado la autorización de la incorporación de las muestras excedentes de tejido y otros derivados (células, sangre, líquidos, mucosa bucal), así como de datos clínicos y epidemiológicos asociados, al Nodo de Tejidos del Biobanco Valdecilla, usted afirma:

1. Declaro bajo mi responsabilidad que he leído la Hoja de Información al Participante sobre el procedimiento citado y acepto participar en él.
2. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al Donante y una copia del Consentimiento Informado, fechada y firmada.
3. Entiendo que la investigación científica es necesaria para avanzar en el diagnóstico, prevención y tratamiento de las enfermedades.
4. He sido informado sobre la **finalidad y el lugar de conservación de las muestras**, así como la seguridad y garantía de cumplimiento de la legalidad vigente. Conozco la posibilidad de ceder a terceros las muestras para futuros proyectos de investigación que cumplan con las exigencias éticas y legales aplicables.
5. Se me han explicado las características y el objetivo del procedimiento y los posibles beneficios y riesgos del mismo.
6. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
7. Entiendo que se mantendrá la confidencialidad de mis datos.
8. Entiendo que tengo derecho de acceso y rectificación a los datos personales archivados en el Biobanco Valdecilla.
9. El consentimiento lo otorgo de manera voluntaria y sé que soy libre de retirar mi autorización en cualquier momento del mismo, por cualquier razón y sin que tenga ningún efecto sobre mi tratamiento médico futuro.

AUTORIZACIONES:

1. Autorizo la incorporación de muestra excedente de tejido diagnóstico, de otros derivados y datos clínicos asociados al Biobanco Valdecilla y su utilización posterior en proyectos certificados de investigación Biomédica.

SI	NO
----	----
2. Autorizo ser contactado, en el caso de necesitar más información, por mi médico o por el responsable clínico que solicita la donación.

SI	NO
----	----
3. Solicito que se me informe sobre los resultados referidos a mi salud derivados de estudios genéticos realizados sobre mi muestra biológica (siempre que la muestra no sea anonimizada).

SI	NO
----	----
4. Si desea restringir el uso de esta muestra para algún proyecto en particular especifique a continuación para qué uso usted no desea que se utilicen su muestra y datos asociados: _____

Dándose todas estas condiciones CONSIENTO que se puedan INCORPORAR MIS MUESTRAS EN EL NODO DE TEJIDOS DEL BIOBANCO VALDECILLA.

D/Dña _____ tras haber leído este documento, he comprendido las explicaciones que el médico me ha facilitado en un lenguaje claro y sencillo, he podido realizar cuantas observaciones he creído conveniente y el médico me ha resuelto todas las dudas que he planteado, estoy satisfecho con la información recibida y comprendo el alcance, los beneficios, las alternativas y los riesgos del procedimiento. Entiendo que este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento antes de la realización del procedimiento sin que ello pueda suponer ningún perjuicio en la atención que se me preste, y que si lo considero puedo solicitar más información. En tales condiciones **CONSIENTO** que se realice el procedimiento propuesto.

_____ de _____ 201__.

Firma: El/la Paciente
 Nombre del paciente, 1º apellido y 2º apellido.
 D./Dña. _____

Firma: El/la Médico.
 Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.
 _____representante del paciente.

Identificación (DNI o Pasaporte): _____
 _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Representante
 Nombre del representante, 1º apellido y 2º apellido.

Firma: El/la Médico.
 Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.

HC-102





CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

VII.- Modelo de **consentimiento informado para el banco de tejidos neurológicos.**

Pág. 1/2

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>	 <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	1º APELLIDO
		2º APELLIDO
<p>ANATOMÍA PATOLÓGICA</p>		NOMBRE <input type="text"/>
		<input type="text"/>
<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO BANCO DE TEJIDOS NEUROLÓGICOS.</p>		

EN QUE CONSISTE: se solicita su aprobación para la extracción de tejido cerebral y/o muestra de médula espinal, así como otros tejidos relacionados con el sistema nervioso para su posterior almacenamiento en el **Nodo de Muestras Sólidas del Biobanco Valdecilla**. El objetivo es que estas muestras puedan ser conservadas y destinadas a futuras investigaciones biomédicas relacionadas con las neurociencias.

FINALIDAD DEL DEPÓSITO DE LAS MUESTRAS: un biobanco es un centro de conservación en condiciones adecuadas de muestras, tejidos, ADN y otros derivados, que representan un valioso instrumento con destino a la investigación de enfermedades y que puede permitir la obtención de conocimientos que sirvan para el desarrollo de nuevas estrategias y terapias aplicables a pacientes. Las muestras se almacenan en el Biobanco Valdecilla.

BENEFICIO: la donación es voluntaria y altruista. Su único beneficio es el que corresponde al avance de la medicina en beneficio de la sociedad, y el saber que ha colaborado en este proceso. La muestra no podrá ser objeto directo de actividades con ánimo de lucro. No obstante, la información generada de su estudio podría ser fuente de beneficios comerciales. En tal caso, están previstos mecanismos para que estos beneficios reviertan en la salud de la población, aunque no de forma individual en sus familiares.

INFORMACIÓN SOBRE LA OBTENCIÓN Y UTILIZACIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS: el procedimiento se llevará a cabo en el Servicio de Anatomía Patológica según protocolos establecidos y las muestras se incorporarán al Biobanco. Una vez realizada la extracción, se restaurará el cuerpo hasta lograr su apariencia inicial garantizándose que en ningún caso supondrá una carga económica o burocrática para sus familiares.

DESTINO DE LA MUESTRA Y CESIÓN A OTRAS LINEAS DE INVESTIGACIÓN: el Biobanco Valdecilla procesará la muestra y sus datos clínicos relevantes, que serán registrados empleando un procedimiento de encriptación y codificación, para garantizar la protección de su identidad. Firmando el documento, las muestras así conservadas se podrán ceder para la realización de proyectos de investigación en el ámbito de las neurociencias. Se le garantiza que estos proyectos serán autorizados por un Comité de Ética de la Investigación, y, la cesión de las muestras cumplirá las exigencias éticas y legales vigentes. Se garantiza el respeto a la calidad de los proyectos de investigación biomédica y el respeto a la dignidad de las personas durante su consecución, en cumplimiento de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, y la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Tanto el Biobanco Valdecilla como el investigador al que en un futuro se puedan ceder las muestras, serán responsables del manejo de los Datos, conforme a la Ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, sobre Protección de Datos de Carácter Personal. En observancia a esta ley le informamos que los datos de carácter personal recogidos en estos estudios pasarán a formar parte de un fichero automatizado que reúna las medidas de seguridad de nivel alto. El Biobanco únicamente transferirá a los investigadores la muestra y los datos clínicos relevantes asociados de manera codificada. El Biobanco Valdecilla garantiza que en ningún caso saldrá del centro dato alguno que le identifique personalmente. Si usted prefiere que nunca nadie pueda recobrar la relación entre las muestras y sus datos identificativos, puede optar por su conservación anonimizada, de manera que no sea posible unirla en el futuro a su identidad.

ACCESO A LAS MUESTRAS Y/O LA INFORMACIÓN: el acceso de los familiares biológicos (de primer grado, en su defecto, de segundo) a la información derivada del análisis genético se limitará a los datos genéticos pertinentes para la protección de la salud de aquellos y la prevención de la enfermedad, siempre que así lo deseen, se haya **solicitado por escrito** y no hayan sido anonimizados. Usted puede ejercer en cualquier momento, los derechos de acceso, rectificación, cancelación u oposición, reconocidos por la normativa anteriormente citada. Si desea hacerlo, puede solicitar información a su responsable clínico para que le explique cómo actuar. En caso de producirse un eventual cierre del Biobanco, la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica con el fin de que usted pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras. Por este consentimiento, el responsable del fichero del Biobanco podrá consultar su historial clínico en el momento del registro de las muestras en el Biobanco y en el caso que sea necesario actualizar la información asociada a sus muestras.

RIESGOS QUE SE PUEDEN PRESENTAR: no existen riesgos por autorizar la donación.

RIESGOS PERSONALIZADOS: no hay riesgos personalizados.

CONTRAINDICACIONES: no se podrá realizar en aquellos casos que el donante hay expresado su opinión contraria a la donación.

CONSECUENCIAS DE NO REALIZARLO: si usted decide no donar, no se obtendrán los beneficios mencionados.

ALTERNATIVAS AL PROCEDIMIENTO: actualmente, no existen otras alternativas a la donación que se le propone.

D/Dña.....tras haber leído este documento, he comprendido las explicaciones que el médico me ha facilitado en un lenguaje claro y sencillo, he podido realizar cuantas observaciones he creído conveniente y el médico me ha resuelto todas las dudas que he planteado, estoy satisfecho con la información recibida y comprendo el alcance, los beneficios, las alternativas y los riesgos del procedimiento.

Entiendo que este consentimiento puede ser revocado en cualquier momento antes de la realización del procedimiento sin que ello pueda suponer ningún perjuicio en la atención que se me preste, y que si lo considero puedo solicitar más información. En tales condiciones **CONSIENTO** que se realice el procedimiento propuesto, y **MANIFIESTO**:

- Sé que la investigación científica es necesaria para avanzar en el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades neurológicas.
- He sido informado sobre la **finalidad y el lugar de conservación de las muestras**, así como la seguridad y garantía de cumplimiento de la

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO



HC-102



CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>  <p>SERVICIO CANTABRO DE SALUD SCS</p>	<p>1º APELLIDO _____</p> <p>2º APELLIDO _____</p> <p>NOMBRE _____</p>
ANATOMÍA PATOLÓGICA	<div style="border: 1px solid black; width: 150px; height: 15px; margin: 0 auto;"></div> <p style="font-size: small; text-align: center;">HISTORIA CLÍNICA / CIP</p>
CONSENTIMIENTO INFORMADO BANCO DE TEJIDOS NEUROLÓGICOS.	

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

legalidad vigente. Conozco la posibilidad de ceder a terceros las muestras para futuros proyectos de investigación que cumplan con las exigencias éticas y legales aplicables.

- Tengo derecho de acceso y rectificación a los datos personales archivados en el Biobanco Valdecilla.
- Sé que existen 3 copias del presente consentimiento. Un ejemplar será custodiado en las instalaciones del Biobanco Valdecilla (Nodo de _____), otro en este hospital y el tercer ejemplar es una copia que me será entregada.
- No hay constancia de que el fallecido haya declarado nunca su oposición a la donación de tejidos a los efectos expresados.

Da su consentimiento para la realización de la autopsia (por favor, márquese una opción):

- Limitada a sistema nervioso
- Completa: estudio con la extensión necesaria para analizar las causas directas o indirectas de su fallecimiento

SOLICITA QUE (por favor, márquese una opción):

- Las muestras y datos ESTÉN CODIFICADOS (familiares del fallecido podrían conocer futuros resultados genéticos):
 - Deseo recibir información de los resultados genéticos, si los hubiera
 - No deseo recibir información de los resultados genéticos, si los hubiera
- Las muestras y datos ESTÉN ANONIMIZADOS: imposibilidad de que familiares puedan conocer futuros resultados genéticos

Por ello, el firmante **expresa su FAVORABLE criterio a la extracción y donación**. Además, acepta la transferencia de los datos clínicos relevantes del fallecido al Biobanco Valdecilla.

El Responsable Clínico firmante constata que ha explicado las características de las condiciones de conservación y seguridad que se aplicarán a la muestra y a los datos clínicos conservados. También constata que se han consultado los documentos de instrucciones previas, para verificar que no hubiera habido prohibición expresa. Hospital en el que trabaja médico solicitante: _____

_____, de _____ 201__.

Firma: El/la Paciente. Firma: El/la Médico.
Nombre del paciente, 1º apellido y 2º apellido. Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.

D/ Dña _____ con DNI _____ representante del paciente _____ doy mi consentimiento.
Debe especificar parentesco y DNI.

_____, de _____ 201__.

Firma: El/la Representante.
Nombre del representante, 1º apellido y 2º apellido.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

HC-102



CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

VIII.- Modelo de **control de muestras para el banco de tejidos neurológico.**

BANCO DE TEJIDOS NEUROLOGICOS

Hoja de recepción de muestras

Fecha de congelación: *Hora:*

Técnico / Celador: *Patólogo:*

<i>Nº BTN:</i>	<i>Nº Autopsia</i>	<i>Fecha/hora de defunción:</i>
----------------	--------------------	---------------------------------

1. Peso del encéfalo:

2. Tiempo post-mortem:

3. Foto Si No

LCR Si No pH: **Sangre** Si No

Despistaje PrP: Cerebelo Caudado Frontal Parietal Temporal Occipital

Resultado despistaje Prp (inmunohistoquímica):

MATERIAL CONGELADO

- Lateralidad Derecha Izquierda
- Bloques (subáreas) BL:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	

Cortes Coroneales: CC -

4. Material recogido

TEJIDO FIJADO EN FORMOL

• Lateralidad Derecha Izquierda

PARAFORMALDEHIDO

- 1. Hipocampo
- 2. Amígdala
- 3. Lob. Frontal
- 4. Tálamo
- Otros.....

RNAlater

- 1. Hipocampo
- 2. Amígdala
- 3. Lob. Frontal
- 4. Tálamo
- Otros.....

GLUTARALDEHIDO



- 1. Hipocampo
- 2. Amígdala
- 3. Lob. Frontal
- 4. Tálamo
- Otros.....

5. Datos macroscópicos

6. Observaciones

X.- Modelo de **consentimiento informado con renuncia a la información del procedimiento.**

Pág. 1/1

 <p>GOBIERNO de CANTABRIA CONSEJERIA DE SANIDAD Y SERVICIOS SOCIALES</p>	 <p>SERVICIO CANTABRINO DE SALUD SCS</p>	1º APELLIDO _____
		2º APELLIDO _____
NOMBRE _____		<input type="text"/>
HISTORIA CLINICA / CIP		
<p>CONSENTIMIENTO INFORMADO CON RENUNCIA A LA INFORMACIÓN: NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO</p>		

IMPRIMIR 2 COPIAS: Una para el PACIENTE y otra para la HISTORIA

D./Dña _____ con DNI _____

en pleno uso de mis facultades mentales y, acogiéndome a la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, **RENUNCIO** a recibir información en relación al procedimiento arriba indicado y **CONSIENTO** su realización.

EN ESTE MOMENTO USTED DEBE INFORMARNOS si tiene: alergias medicamentosas, tendencia a sangrar con facilidad (alteraciones de la coagulación), enfermedades del corazón o del pulmón, otras enfermedades, medicaciones actuales (sobre todo aquellas para que la sangre circule con mayor facilidad como son los antiagregantes y anticoagulantes), si tiene prótesis o lleva marcapasos, si tiene otras enfermedades o cualquier otra circunstancia

Entiendo que este consentimiento puede ser revocado antes de su realización sin que ello pueda suponer ningún perjuicio en la atención que se me preste, y que si lo considero puedo solicitar más información. En tales condiciones **CONSIENTO** que se realice el procedimiento propuesto.

_____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la Paciente. Firma: El/la Médico.
Nombre del paciente, 1º apellido y 2º apellido. Nombre del médico, 1º apellido y 2º apellido.

D./Dña **representante** del paciente con número de identificación (DNI o Pasaporte): _____, acogiéndome a la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, **RENUNCIO** a recibir información en relación al procedimiento arriba indicado y **CONSIENTO** su realización.

_____, _____ de _____ 201__.

Firma: El/la representante. Firma: El/la Médico.
Nombre del representante, 1º apellido y 2º apellido. Nombre médico, 1º apellido 2º apellido.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

HC-102



CONSENTIMIENTO INFORMADO



03

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE DERMATOPATOLOGÍA DE LA SEAP

Introducción

Angel Santos-Briz Terrón, coordinador del club

Correspondencia: santosbriz@usal.es

En el Grupo Español de Dermatopatología hemos comenzado a diseñar las guías de práctica clínica del Libro Blanco de la SEAP con un tema de gran importancia sociosanitaria: el melanoma cutáneo. Lo hemos hecho por tres razones: el aumento de su incidencia, producido por los cambios del estilo de vida de nuestra sociedad, su mal pronóstico en estadios avanzados y, fundamentalmente, por el desarrollo en los últimos años de nuevas terapias para pacientes con enfermedad diseminada. Para ello nos hemos centrado en dos temas. En el primero, "El informe de melanoma cutáneo", se exponen los datos obligatorios y recomendables que debe incluir un informe protocolizado de melanoma siguiendo las directrices de los principales protocolos publicados. En el segundo, "Recomendaciones para la determinación de biomarcadores en melanoma metastásico" se indica qué marcadores moleculares conviene estudiar en pacientes con melanoma, en qué situaciones y la metodología a emplear.

Informe del Melanoma Cutáneo

Juan José Ríos Martín

Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

El informe anatomopatológico protocolizado de un melanoma cutáneo, incluyendo todos los datos histológicos necesarios para predecir su pronóstico, es esencial para el manejo multidisciplinar del paciente. Además, se aconseja que incluya una breve descripción de los hallazgos microscópicos que permiten hacer el diagnóstico de melanoma. En los últimos años se han publicado numerosas guías y protocolos de informes que recogen los principales ítems que no deben de faltar en el informe de un melanoma.

En el presente documento haremos una relación de los datos obligatorios que en nuestra opinión debe de incluir un informe protocolizado de un melanoma cutáneo y los datos recomendados (no obligatorios), lo que no excluye que se pueda añadir texto libre con opiniones personales del autor del informe. Para ello seguiremos las directrices de los principales protocolos publicados (1,2). También haremos una breve recomendación sobre los datos del informe del ganglio centinela.

A. DATOS OBLIGATORIOS

1. LOCALIZACIÓN Y LATERALIDAD DEL TUMOR

Identificar la localización anatómica del melanoma es importante por varias razones: influye en el pronóstico, modifica los hallazgos microscópicos que pueden influir en el diagnóstico correcto y es necesaria en caso de la aparición de metástasis.

2. TIPO DE MUESTRA

El tipo de biopsia realizada puede afectar al estudio patológico, e identificarlo en el informe, es importante para conocer el tipo de muestra que se ha utilizado para el diagnóstico. Obviamente, la biopsia escisional con márgenes libres es el método más apropiado. La biopsia incisional puede no ser representativa de la neoplasia y ocasionar errores diagnósticos.

3. ESPESOR DE BRESLOW (en mm)

Es el factor pronóstico más importante en un melanoma cutáneo primario localizado (3). Debe de medirse desde la capa granulosa de la epidermis hasta la célula más profunda que se encuentre en la dermis en la base del tumor. En los melanomas ulcerados la medición debe de comenzar en el fondo de la úlcera, aunque este hecho pueda infravalorar el espesor de la neoplasia al desconocer la cantidad de melanoma perdido por la úlcera. En el caso de melanomas finos (< de 1mm) algunos autores aconsejan utilizar técnicas inmunohistoquímicas (Melan-A) para identificar con mayor seguridad el componente más profundo y medir con mayor precisión el espesor (4).

Algunas consideraciones importantes sobre la medición son:

- Debe de evaluarse en secciones histológicas perpendiculares a la superficie epidérmica, evitando las secciones tangenciales. Si no fuera posible es recomendable incluir una nota aclaratoria en el informe.
- Si existe regresión histológica, ésta no debe de incluirse en la medición. Si se incluyera esta medición, debe de aclararse en una nota del informe que no corresponde al Breslow real de la neoplasia.
- No debe de incluirse en la medición la extensión perianexial (en dermis adventicia perianexial o invasión extra-adventicia), excepto cuando solo exista invasión en la dermis adventicia y el resto del melanoma sea por tanto intraepidérmico. En estos casos debe de medirse desde la parte interna de la vaina epitelial externa del folículo, o desde la superficie luminal de la glándula sudorípara, hasta la mayor infiltración de la dermis perianexial.
- En biopsias superficiales (no escisionales) se recomienda informar: "Breslow al menos de ..."
- En los casos de existir un nevus melanocítico intradérmico asociado al melanoma se ha de estar seguro de medir el componente invasivo maligno.
- Existen controversias en la medición cuando se observa neurotropismo en profundidad. Se recomienda hacer dos mediciones, incluyendo y sin incluir el neurotropismo.
- Los satélites microscópicos (ver más adelante) no deben de incluirse en la medición.

4. ULCERACIÓN

Es uno de los tres factores pronósticos incluidos por la AJCC en el sistema de Estadificación (3). La auténtica ulceración debe de no ser confundida con una pérdida artefactual de la epidermis; por ello, es necesario observar depósito de fibrina o tejido de granulación para confirmar la existencia de ulceración. Algunos autores recomiendan valorar la extensión de la ulceración en mm ó como porcentaje de la superficie de la neoplasia ulcerada (5).

5. ÍNDICE DE MITOSIS

Numerosos estudios indican que el número de mitosis es un importante factor pronóstico, sin embargo en el sistema de estadificación de la AJCC solo es incluido en los casos T1, subclasificando en T1b cuando existe solo una mitosis en el componente dérmico de un melanoma. El conteo de mitosis se recomienda sea hecho comenzando por el campo con mayor número de mitosis ("hot spot") y siguiendo en campos consecutivos hasta completar 1 mm² (aproximadamente 5 campos de gran aumento). Puede facilitarse el recuento con técnicas inmunohistoquímicas, con o sin técnicas digitales auxiliares, pero hasta la fecha no han demostrado mayor fiabilidad que el sistema clásico de valoración con HE.

6. MÁRGENES QUIRÚRGICOS

El informe debe de incluir si los márgenes, lateral y profundo, están o no afectados por la neoplasia. En los casos en los que éstos estén libres se recomienda incluir la distancia en mm desde el componente in situ al margen lateral y desde el componente invasivo a los márgenes lateral y profundo. Estos datos ayudan al clínico en el manejo posterior del paciente y también a los patólogos en el estudio de piezas de re-escisión para determinar si una recidiva local del melanoma se trata de persistencia del primario o de una metástasis.

7. INVASION LINFOVASCULAR

Aunque es un hallazgo no muy frecuente, es importante por implicar un peor pronóstico. El uso de técnicas inmunohistoquímicas con marcadores de endotelio vascular facilita la búsqueda de esta invasión.

8. NEUROTROPISMO

Puede observarse invasión peri o intraneural. La presencia de estructuras "neuroides" formadas por las células neoplásicas se relaciona también con el neurotropismo. No debe de confundirse con el atrapamiento de nervios en el seno del melanoma. La presencia de neurotropismo se relaciona con recidivas locales.

9. MICROSATÉLITE

Se define como un nódulo neoplásico (> 0,05 mm) separado al menos 0,3 mm de la neoplasia principal por dermis normal (sin fibrosis o inflamación) o hipodermis. Los microsátélites y las metástasis "en tránsito" tienen la misma consideración como factores pronósticos en el sistema de estadificación de la AJCC (estadio N3). La existencia de un microsátélite en el margen de extirpación debe de ser un indicador para la re-escisión.

B. DATOS RECOMENDADOS (NO OBLIGATORIOS)

1. SUBTIPO HISTOLÓGICO DE MELANOMA

Los subtipos histológicos de melanoma descritos por Clark: de extensión superficial, nodular, lentiginoso acral y lentigo maligno melanoma, tienen poca relevancia pronóstica y para el manejo clínico. Además, su interpretación es subjetiva y poco reproducible. Es de mayor interés en la actualidad clasificar los melanomas en invasivos y no invasivos, y si es posible en base a las mutaciones genéticas existentes (BRAF, NRAS, KIT ...), que están en estrecha relación con la localización anatómica.

2. NIVEL DE CLARK

Los niveles de invasión descritos por Clark han sido desplazados por el espesor de Breslow, aunque pueden aportar información pronóstica en los casos de difícil valoración del espesor.

3. INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOCITARIO

El interés pronóstico del infiltrado inflamatorio es motivo de debate. La mayoría de los autores sugieren que la existencia de un denso infiltrado se asocia a un mejor pronóstico; el problema es la variabilidad interobservador en la cuantificación. Puede gradarse en ausente, escaso o llamativo; en este último caso se puede añadir si es peri o intratumoral.

4. REGRESIÓN TUMORAL

El significado pronóstico de la regresión también es controvertido. Algunos autores han demostrado un peor pronóstico en melanomas finos, probablemente por infravaloración del espesor de Breslow. No existen criterios definidos y reproducibles para su valoración. Puede valorarse como más o menos del 75% de la neoplasia.

Es importante destacar que la existencia de regresión en los márgenes de una pieza quirúrgica es indicación de re-escisión.

5. LESIÓN MELANOCÍTICA ASOCIADA

Es relevante solo por las consideraciones patogénicas del melanoma y también para estudios clínicos de otra índole.

INFORME DEL GANGLIO CENTINELA

En relación al informe anatomopatológico del ganglio centinela no existen protocolos estandarizados, probablemente porque tampoco existe un procedimiento consensuado de tallado, inclusión, números de secciones histológicas y uso de técnicas inmunohistoquímicas. No cabe duda que el método utilizado puede afectar a la tasa de positividad de metástasis (6).

El procedimiento de corte más utilizado es la sección en cortes transversales del ganglio linfático, siguiendo su eje mayor, y su inclusión completa. En nuestra opinión, de cada bloque deben hacerse cortes histológicos al menos a 3 niveles (los dos primeros teñidos con HE y el tercero con Melan-A).

El informe del ganglio centinela debe de incluir:

- Número de ganglios centinelas
- Número de ganglios positivos
- Localización de la metástasis en el ganglio (subcapsular, intraparenquimatosa o ambas)
- El diámetro máximo de la metástasis mayor
- La presencia o ausencia de extensión extranodal.

Bibliografía

1. Scolyer RA, Judge MJ, Evans A, et al. Data set for pathology reporting of cutaneous invasive melanoma. Recommendations from the international collaboration on cancer reporting (ICCR). *Am J Surg Pathol* 2013; 37:1797-1814.
2. Scolyer RA, Prieto VG. Melanoma pathology: important issues for clinicians involved in the multidisciplinary care of melanoma patients. *Surg Oncol Clin N Am* 2011; 41:470-473.
3. AJCC(American Joint Committee on Cancer). *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer-Verlag; 2009.
4. Drabeni M, Lopez-Vilaró L, Barranco C, et al. Differences in tumor thickness between hematoxylin and eosin and Melan-A immunohistochemically stained primary cutaneous melanomas. *Am J Dermatopathol* 2013; 35:56-63.
5. In 't Hout FE, Haydu LE, Murali R, Bonenkamp JJ, Thompson JF, Scolyer RA. Prognostic importance of the extent of ulceration in patients with clinically localized cutaneous melanoma. *Ann Surg*. 2012 Jun; 255(6): 1165-70.
6. Cole ChM, Ferringer T. Histopathologic evaluation of the sentinel Lymph node for malignant melanoma: the unstandardized process. *Am J Dermatopathol* 2014; 36:80-87.

Recomendaciones para la determinación de Biomarcadores en Melanoma Metastásico.

Angel Santos-Briz (1), Maite Fernandez Figueras (2) , Maria Dolores Lozano (3), Juan José Ríos Martín (4) , José Luis Rodríguez Peralto (5)

(1) Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca

(2) Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona

(3) Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona

(4) Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla

(5) Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

INTRODUCCIÓN

La agresividad y la resistencia a la quimioterapia convencional del melanoma metastásico son un claro reflejo de los complejos mecanismos de tumorigénesis u oncogénesis implicados en el melanoma. No ha sido hasta los últimos años cuando se han logrado identificar algunas de las aberraciones genéticas más relevantes que subyacen a esta neoplasia.

En el año 2005, el grupo de Bastian et al. demostró la existencia de distintas vías moleculares de malignización en el melanoma, cada una de ellas con una relación diferente con la exposición a la luz ultravioleta y, por tanto, con el tipo de daño solar. También abrió un nuevo paradigma diagnóstico y farmacológico que ha causado uno de los cambios terapéuticos más relevantes de los últimos años¹. Este estudio dio el soporte conceptual para la identificación de una serie de posibles dianas, y permitió el desarrollo de moléculas con una actividad frente al melanoma absolutamente extraordinaria, dados los escasos avances obtenidos con la quimioterapia convencional en los años precedentes².

Simultáneamente, tras la definición de mecanismos y moléculas clave en la regulación inmunitaria antitumoral en modelos experimentales, se han desarrollado anticuerpos monoclonales que han demostrado una actividad antitumoral y unas tasas de control de enfermedad superiores a las obtenidas mediante quimioterapia³. Estos avances hacen necesaria la actualización de los protocolos diagnósticos y terapéuticos en el melanoma metastásico⁴.

IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS BIOMARCADORES EN MELANOMA

Mutación de *BRAF*

Aproximadamente la mitad de los melanomas presentan una mutación activadora en *BRAF*. En tres cuartas partes de los casos la mutación corresponde a V600E, y con menos frecuencia a V600K y a otras variantes⁵. Esta mutación parece un evento precoz en el desarrollo del tumor y ha permitido el desarrollo de fármacos

que inhiben específicamente esta proteína mutada. Los fármacos inhibidores de BRAF son más eficaces que la quimioterapia convencional en el tratamiento del melanoma diseminado. El primero de los nuevos inhibidores de BRAF es Vemurafenib, que se administra de forma continua por vía oral⁶. Más recientemente se han comunicado los resultados obtenidos con otro inhibidor de BRAF denominado Dabrafenib, que también se administra por vía oral.

Considerando el beneficio clínico y la prolongación de la supervivencia global obtenidos en estos pacientes, los inhibidores de BRAF se han convertido en el tratamiento de elección para el melanoma avanzado con mutación en *BRAF*. A pesar de la elevada actividad de los nuevos inhibidores de BRAF, la mayoría de los pacientes acaban sufriendo una progresión del tumor. Por tal motivo, se están estudiando los mecanismos relacionados con la resistencia a estos fármacos. De esta forma, se ha observado que aunque suele mantenerse la mutación en *BRAF*, aparecen o se seleccionan nuevas mutaciones que llevan a reactivar la vía MAPK⁷. Estos datos apoyan la investigación con combinaciones de fármacos. Los inhibidores de BRAF producen toxicidad cutánea leve o moderada en la mayoría de los pacientes. Esta puede consistir en fotosensibilidad, exantema, foliculitis, prurito y aparición de queratoacantomas o carcinomas epidermoides. Otras toxicidades frecuentes son la astenia, la artralgia y la elevación de las enzimas hepáticas.

Alteraciones genéticas de *KIT*

Los melanomas que se originan en las mucosas, en las regiones acrales y en la piel crónicamente expuesta al sol, presentan de manera infrecuente mutaciones en *BRAF*. Sin embargo, pueden albergar mutaciones (10%) y/o amplificaciones (25%) del gen *KIT*⁸, un receptor transmembrana con actividad tirosina cinasa⁹. Las mutaciones en *KIT* se detectan con distintas frecuencias en los siguientes exones: exón 9 (2%), exón 11 (60-70%), exón 13 (15-20%) y exones 17 o 18 (10-15%)¹⁰. Dado el éxito clínico del tratamiento de los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) con inhibidores de la actividad tirosina cinasa de *KIT*, como imatinib y sunitinib, se ha desarrollado una estrategia similar en el melanoma. Sin embargo, el tipo de mutaciones y la frecuencia con la que se detectan en los exones es diferente. Además, el número aumentado de copias de *KIT* que se ha observado en estos melanomas es un evento raro en los GIST, lo que anticipa que la actividad clínica de estos agentes en los pacientes con melanoma con el gen *KIT* mutado pueda ser inferior. Los estudios que han evaluado el papel pronóstico de las mutaciones de *KIT* en melanoma y la actividad clínica de Imatinib en pacientes con melanoma y alteraciones genéticas en *KIT*^{11,12} son controvertidos. En general los datos indican que algunos pacientes con melanomas con el gen *KIT* mutado pueden responder a inhibidores de *KIT*, aunque no existen datos concluyentes.

Alteraciones genéticas de *NRAS*

Entre los genes *RAS*, las mutaciones más frecuentes en el melanoma son en *NRAS* (10-20%), mientras que las mutaciones en *HRAS* y *KRAS* se detectan aproximadamente en el 1 y el 2% de los melanomas, respectivamente¹². La mayoría de las mutaciones de *NRAS* se detectan en el codón 60 o 61 del exón 2 (80%), y en el codón 12 o 13 del exón 1 (20%). Además, la presencia de mutaciones en *NRAS* y *BRAF* parece ser mutuamente excluyente, observándose juntas en menos del 1% de los pacientes¹³. Recientemente se ha descrito la presencia de mutaciones simultáneamente en *BRAF* y *NRAS* después del tratamiento con inhibidores selectivos de *BRAF*, como Vemurafenib, aunque antes de iniciar el tratamiento solo era detectable la mutación en *BRAF*. La inhibición farmacológica selectiva de *NRAS* ha tenido poco éxito hasta la fecha, debido a la dificultad de diseñar antagonistas de *NRAS* que inhiban su actividad guanosina trifosfatasa (GTPasa).

Alteraciones genéticas de *GNAQ/GNA11*

Hasta el 83% de los melanomas uveales tienen mutaciones en los genes *GNAQ* o *GNA11*. No parece que la presencia de estas mutaciones se asocie con el pronóstico de la enfermedad¹⁴, aunque su valor puede venir dado por la posibilidad de desarrollar nuevas terapias dirigidas¹⁵, como la de los inhibidores de MEK. Sin embargo, en la actualidad, dada la ausencia de implicaciones terapéuticas o pronósticas relacionadas con estos genes, no se considera necesaria su determinación asistencial.

Alteraciones genéticas de *PTEN*

En el 20-40% de los melanomas se puede determinar, mediante inmunohistoquímica, una pérdida o reducción significativa de la expresión de *PTEN* en muestras tumorales¹⁶. Tanto las mutaciones somáticas puntuales del gen *PTEN* como las deleciones homocigóticas son raras. Dado que la vía PI3K/AKT/*PTEN* puede modularse farmacológicamente, es previsible que sus integrantes principales se conviertan, en un futuro próximo, en biomarcadores con potencial predictivo.

DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES EN MELANOMA

I. FASE PREANALÍTICA

Para obtener un óptimo rendimiento en las técnicas moleculares es esencial que se cumplan los máximos estándares de calidad en todas las etapas y, sin duda, obtener un diagnóstico histopatológico correcto es el primer paso. Para ello:

1. Siempre que exista sospecha clínica o radiológica de metástasis es recomendable la *confirmación diagnóstica mediante la realización de una biopsia o punción citológica*. Este abordaje permite, además, disponer de material representativo de la fracción metastatizante del tumor. Aunque es deseable disponer de la máxima cantidad posible de tumor, también se pueden obtener buenos resultados con muestras muy pequeñas, tales como las preparaciones citológicas fijadas en alcohol y teñidas con Papanicolaou procedentes de improntas tumorales o mediante punción y aspiración¹⁷.
2. Cuando el estudio se realiza en un centro de referencia, es aconsejable que el *diagnóstico sea ratificado por patólogos o dermatopatólogos expertos*.
3. La mayor parte de las muestras relacionadas con el melanoma proceden de tejido *fijado en formol y conservado en parafina*.
 - La *fijación* debe realizarse inmediatamente después de la obtención de la muestra, usando formaldehído tamponado al 10% durante 24 h, intentando no superar las 48 h. La selección del bloque de parafina más idóneo para el estudio posterior debe realizarse examinando una sección teñida con hematoxilina-eosina que sea representativa del tejido presente en el bloque en el momento del estudio. La sección original en la que se realizó el diagnóstico inicial puede diferir mucho del tejido restante, sobre todo si después de su obtención se han cortado secciones adicionales para realizar técnicas especiales.
 - La integridad de los ácidos nucleicos en el material parafinado se pierde con el tiempo, por lo que se debe elegir la *muestra más reciente*.
 - Los mejores resultados se obtienen cuando el tiempo de fijación ha sido óptimo y cuando la muestra contiene una *gran cantidad de tumor y poca necrosis*¹⁸.
 - Se deben escoger los bloques que contengan *menos pigmento melánico*, ya que es capaz de inhibir por sí solo las enzimas ácido desoxirribonucleico (ADN)-polimerasas, invalidando los resultados.
4. Una vez seleccionado el bloque, se obtienen secciones de 5 µm que se depositan en tubos o sobre laminillas y se fijan mediante estufa a 37 ± 2 °C toda la noche o a 56 ± 2 °C durante 30 min. Si el tamaño del tejido tumoral es igual o mayor a 1 cm², es suficiente con una única sección, pero si la muestra es de tamaño inferior se deben usar más secciones. Después de la obtención de las secciones el *proceso de extracción de ácidos nucleicos* se debe realizar con prontitud, no retrasándolo más de 48 h. En caso de no poder efectuar la extracción rápidamente, la muestra se debe conservar en nevera a 2-8 °C y preferiblemente apartada de la luz. Para evitar contaminaciones cruzadas, las superficies de trabajo y el micrótopo se pueden limpiar con una disolución descontaminante de nucleasas (10% de lejía y 70% de etanol, por ejemplo). Después, se puede aplicar agua libre de nucleasas y secar con una toalla de papel. Es aconsejable utilizar una cuchilla desechable nueva en el micrótopo para cada caso y manipular los bloques con guantes desechables. Los resultados son más precisos cuanto mayor sea la proporción de tumor en la muestra. Por este motivo, si el tumor viable supone menos del 80% del

tejido en el bloque de parafina, se debe efectuar una *macrodissección* para seleccionar la mayor cantidad posible de tumor viable, desestimando el tejido normal y las zonas con necrosis o con hiperpigmentación melánica. La zona de interés se marca con un rotulador permanente sobre una preparación histológica teñida con hematoxilina-eosina y se compara con la superficie del bloque o la sección sin teñir depositada sobre una laminilla. La macrodissección puede realizarse sobre esta sección, rascando el tumor con el extremo de un bisturí, o bien reblandeciendo el bloque de parafina en la estufa a 65 °C durante una hora, y separando con un bisturí la zona de estudio del resto de la muestra.

II. FASE ANALÍTICA

1. Determinación de mutaciones en BRAF

En la actualidad, los métodos moleculares que se utilizan para determinar las mutaciones de BRAF son los mismos que se emplean para otros estudios de patología molecular. Existen publicados numerosos protocolos para identificar mutaciones de BRAF, tanto en tejido tumoral como en sangre periférica, en ADN y en ácido ribonucleico (ARN). Sin embargo, nos centraremos en los sistemas de identificación de mutaciones que se aplican de forma rutinaria en los laboratorios de anatomía patológica, y que básicamente se pueden clasificar en métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación, y métodos basados en PCR en tiempo real (RT-qPCR).

Entre los métodos de secuenciación se encuentra:

- La *secuenciación directa por el método Sanger*, que consiste en el análisis directo de la secuencia de ADN previamente amplificada por PCR. Este es un método de alta especificidad con el que se pueden detectar todas las mutaciones posibles. Sin embargo, es una técnica con una sensibilidad subóptima (25%), que puede dar lugar a falsos negativos. Requiere equipamientos específicos, por lo general ausentes en los laboratorios de anatomía patológica, y para la interpretación del resultado es necesario personal técnico experimentado.
- Otro método de secuenciación es la *pirosecuenciación*, que se basa en una reacción de PCR en la que, por cada nueva base que se añade a la cadena de ADN, se libera un pirofosfato que se traduce en la emisión de luz ultravioleta. Tiene como ventajas ser una técnica en tiempo real, con una alta sensibilidad analítica, sencilla y coste-efectiva. Puede identificar todas las mutaciones posibles dentro de una región de interés. Entre sus inconvenientes destacan que los reactivos pueden resultar caros y que requiere un pirosecuenciador, que no es habitual en los laboratorios convencionales de anatomía patológica. Uno de los equipos comerciales más empleados es el Therascreen BRAF Pyro® de Qiagen, que cumple la directiva europea de diagnóstico in vitro. Por último, en la actualidad se están desarrollando diferentes plataformas de secuenciación masiva para la práctica asistencial.
- La técnica basada en la *RT-qPCR* es actualmente el método más empleado en los servicios de anatomía patológica para la identificación de biomarcadores moleculares en tumores. En esta técnica se utiliza un termociclador que lleva incorporado un lector de fluorescencia con el que es posible cuantificar el ADN sintetizado en cada momento. Entre las ventajas del método de RT-qPCR destaca la alta sensibilidad, que es mayor que con la secuenciación bidireccional de Sanger. Es un método sencillo y rápido, que permite utilizar plataformas preexistentes en los servicios de anatomía patológica para la determinación de otras mutaciones, como KRAS en carcinoma colorrectal y EGFR en carcinoma de pulmón no microcítico. Su mayor inconveniente es que solo detecta mutaciones conocidas. Sin embargo, teniendo en cuenta que en el momento actual las mutaciones de BRAF más frecuentes son la V600E (40-60%) y la V600K (20%)¹⁹⁻²¹, y que ambas son subsidiarias de tratamientos con inhibidores de BRAF, esta técnica es óptima para identificar este tipo de mutaciones. Existen 2 tipos de sondas para la determinación de mutaciones de BRAF, denominadas TaqMan® y Scorpions®.
 - El prototipo de sonda *TaqMan*® para la determinación de mutaciones *BRAF* utiliza la prueba diagnóstica cobas® 4800 BRAF/V600, que está aprobada por la Agencia de Alimentos y Medicamentos

de Estados Unidos (FDA) y tiene el sello de Conformidad Europea (CE). A pesar de ser una prueba inicialmente diseñada para determinar mutaciones en V600E, también es capaz de detectar el 70% de las mutaciones en V600K22, así como las mutaciones de V600D y V600E2.

- Para la técnica RT-qPCR con sondas *Scorpions*[®], en la actualidad se utiliza la prueba BRAF gen rotor Q (RGQ) PCR de Qiagen[®]. Se trata de un equipo diseñado para determinar la mutación somática V600E de BRAF, que además detecta las mutaciones V600K, V600E compleja (*GAA*) y V600D. En la actualidad dispone de sello CE para diagnóstico. Para la identificación de las mutaciones es conveniente saber interpretar las curvas de amplificación, para lo que se requiere experiencia.
- Existen más métodos basados en la técnica PCR, entre los que se encuentran las pruebas diagnósticas basadas en la PCR convencional, propias de cada laboratorio y también comerciales, que detectan la presencia de mutaciones puntuales de *BRAF* y el análisis de las curvas de fusión de alta resolución.

2. Determinación de otros biomarcadores

Si bien en el melanoma no está clara la importancia clínica de las **mutaciones en KIT**, el 20% de los casos con estas mutaciones son sensibles a Imatinib y a otros inhibidores de KIT, aunque en la actualidad esta indicación no está registrada. Las mutaciones ocurren con más frecuencia en el exón 11 y con menos frecuencia en los exones 9, 13, 17 y 18¹⁰. En el exón 11, la mayoría de las mutaciones (34%) causan la sustitución de una leucina por una prolina en el codón 576. En cualquier caso, se debe realizar el estudio mutacional de los 5 exones del gen. En los casos en que la cantidad o calidad del ADN sea un factor limitante, se evaluarán de forma preferente los exones 9 y 11. Los 2 métodos más utilizados para la determinación de las mutaciones de *KIT* son la secuenciación directa y la RT-qPCR. En cualquier caso, independientemente de la técnica realizada, es importante seleccionar la muestra con un porcentaje adecuado de células tumorales. En algunos casos es conveniente llevar a cabo una microdissección para limitar la presencia de alelos nativos (*wild-type*) de células no tumorales. Las muestras citológicas son también útiles, y puesto que no están sujetas a la fijación con formol, la calidad del ADN es generalmente superior¹⁷. Es importante destacar que la detección por inmunohistoquímica de la proteína KIT (CD117) no es fiable para predecir mutaciones, lo que conlleva la necesidad de hacer pruebas moleculares²⁴.

III. FASE POSTANALÍTICA

La Tabla 1 muestra un listado de los datos que debe incluir un informe anatomopatológico en la fase postanalítica.

Tabla 1. Informe anatomopatológico de melanoma en la fase postanalítica

<p><i>Identificación del paciente y médico solicitante</i></p> <p><i>Origen anatómico de la muestra</i></p> <p><i>Método de obtención de la muestra</i>^a</p> <p><i>Resultado del estudio inmunohistoquímico</i>^b</p> <p><i>Pruebas moleculares</i></p> <p>Tipo de muestra^c</p> <p>Calidad de la muestra^d</p> <p>Identificación de la técnica realizada para la determinación del biomarcador/es</p> <p>Resultado de mutaciones y/u otras alteraciones detectadas</p> <p>Identificación del laboratorio responsable del estudio molecular</p> <p>Comentarios adicionales de interés para el peticionario^e</p> <p>Información sobre acreditación de programas de calidad</p> <p><i>Diagnóstico anatomopatológico final</i></p>

^a Mediante cirugía, biopsia, punción, etc.

^b Si se hubiera realizado.

^c Tejido fresco, congelado, parafina, extensiones citológicas, etc.

^d Porcentaje de tumor, microdissección, etc.

^e Si se considera necesario.

IV. CONTROLES DE CALIDAD EXTERNOS

Los laboratorios que realicen determinaciones de biomarcadores moleculares que sean dianas terapéuticas para el tratamiento de los pacientes con melanoma, deben utilizar tecnologías validadas, tanto en su especificidad y sensibilidad, como en su valor predictivo. Además, es recomendable que dichos laboratorios participen en programas de control de calidad externos, como el implantado por la SEAP, para el estudio mutacional de EGFR en los pacientes con adenocarcinoma de pulmón y de KRAS en los pacientes con adenocarcinoma colorrectal. Este programa evalúa la calidad preanalítica, analítica y postanalítica de cada laboratorio. Para ello, los laboratorios participantes reciben casos mutados y sin mutar seleccionados previamente por el centro coordinador del programa, que deben ser estudiados siguiendo los protocolos habituales de trabajo. Los resultados obtenidos por cada laboratorio son evaluados y discutidos por el comité de expertos de la SEAP. En el caso de existir centros de referencia para la determinación de biomarcadores, estos deben poseer la acreditación y certificación necesarias según los estándares exigidos por la autoridad sanitaria de cada comunidad autónoma.

V. ASPECTOS PRÁCTICOS

1. Flujo de trabajo y lugar para la realización de las determinaciones

La determinación de mutaciones en el gen BRAF de pacientes con melanoma metastásico se debe realizar de modo prioritario, ya que su resultado va a condicionar el tratamiento farmacológico. Por tanto, el tiempo de realización de la determinación no debería retrasarse. Para conseguirlo, en estos casos es de vital importancia el trabajo multidisciplinar conjunto a través de comités de tumores específicos integrados por oncólogo médico, patólogo, oncólogo radioterápico, dermatólogo, cirujano, biólogo molecular, técnico de anatomía patológica y el resto del personal implicado. Es básico que en los comités de tumores, donde se va a discutir la actitud a tomar con cada paciente, estén representados los responsables de realizar los análisis moleculares. En cualquier caso, los estudios moleculares se deben realizar con la supervisión de especialistas de anatomía patológica que puedan garantizar la selección de la mejor área tumoral, con menor necrosis o pigmentación y máximo componente celular neoplásico.

2. Tiempos recomendados y aceptables

El tiempo es trascendental para estos pacientes, por tanto, una vez se decida que es imprescindible realizar la determinación molecular, el patólogo debe elegir el tejido histológico óptimo disponible. Para ello, debe tener en cuenta que aunque en principio las mutaciones de BRAF suelen ser bastante constantes, es preferible utilizar siempre que sea posible el material tumoral más reciente. En cuanto al tiempo óptimo recomendable, entre la petición al servicio de anatomía patológica hasta la emisión del informe con el resultado del análisis de la mutación molecular en el gen BRAF, debería ser de 4 a 5 días y no exceder nunca los 7 días.

3. ¿Qué pacientes requieren un estudio de biomarcadores?

Los resultados de los recientes ensayos clínicos con inhibidores de BRAF y MEK han sido tan relevantes desde el punto de vista estadístico y clínico, que la incorporación del estudio de mutaciones en BRAF en el melanoma metastásico debe ser considerado hoy día una práctica rutinaria^{25,26}. Así, cuando los servicios de anatomía patológica no tengan la experiencia o la infraestructura necesarias para realizar estos análisis, deben contactar con laboratorios de referencia para realizarlos. En nuestro país, muchos laboratorios están acreditados para el estudio molecular de mutaciones de BRAF, y recientemente se ha puesto en marcha la plataforma BRIGHT (www.biomarkerpoint.com) como punto de referencia para realizar estos estudios. Además de los estudios moleculares, recientemente se ha descrito la detección de la mutación BRAF V600E por inmunohistoquímica (VE1); no obstante, son necesarios nuevos estudios confirmatorios para su implantación en la práctica clínica habitual.

El interés del estudio de las mutaciones en *NRAS* en pacientes con melanoma metastásico no portadores de mutaciones de *BRAF* está vinculado al contexto del ensayo clínico. Esto mismo se puede decir del análisis mutacional de *GNAQ/GNA11* en melanomas oculares, cuyo papel en la selección de tratamiento está actualmente siendo evaluado en estudios clínicos prospectivos, sin que todavía haya evidencias que justifiquen su realización rutinaria.

El estudio de mutaciones de *KIT* puede considerarse en pacientes con enfermedad irreseccable y tumores primarios con localización acral o en mucosas, sin que pueda recomendarse su estudio en otros melanomas. La detección por inmunohistoquímica del ligando de la proteína de muerte programada 1 (PD-L1) podría ser de interés, si se confirma la actividad de los anticuerpos monoclonales anti-PD-1 y de anti-PD-L1 en melanoma metastásico²⁷.

CONCLUSIONES

A la hora de planificar el tratamiento de cualquier paciente con melanoma metastásico es recomendable conocer previamente el estado mutacional de *BRAF V600E*, cuyo análisis debe ser realizado en laboratorios acreditados y suficientemente experimentados en no más de 7 días. La determinación de otros biomarcadores como *KIT* o PD-L1 podría ser útil en casos específicos de melanomas avanzados, o si se confirma la actividad de los anticuerpos monoclonales anti-PD-1 y de anti-PD-L1, aunque por el momento no se considera que deba formar parte de la práctica clínica rutinaria.

Bibliografía

1. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med.* 2005;353:2135-47.
2. Flaherty KT, Hodi FS, Fisher DE. From genes to drugs: Targeted strategies for melanoma. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:349-61.
3. Melero I, Hervas-Stubbs S, Glennie M, Pardoll DM, Chen L. Immunostimulatory monoclonal antibodies for cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2007;7:95-106.
4. Martín-Algarra S, Fernández-Figueras MT, López-Martín JA, Santos-Briz A, Arance A, Lozano MD, Berrocal A, Ríos-Martín JJ, Espinosa E, Rodríguez-Peralto JL. Guidelines for biomarker testing in metastatic melanoma: a National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol.* 2014;16:362-73.
5. Edlundh-Rose E, Egyhazi S, Omholt K, Mansson-Brahme E, Platz A, Hansson J, et al. *NRAS* and *BRAF* mutations in melanoma tumours in relation to clinical characteristics: A study based on mutation screening by pyrosequencing. *Melanoma Res.* 2006;16:471-8.
6. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated *BRAF* in metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010;363:809-19.
7. Sosman JA, Pavlick AC, Schuchter LM, Lewis KD, McArthur GA, Cowey CL, et al. Analysis of molecular mechanisms of response and resistance to vemurafenib (vem) in *BRAFV600E* melanoma. *ASCO Meeting Abstracts.* 2012;30:8503.

8. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4340-6.
9. Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, et al. Human proto-oncogene c-kit: A new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J.* 1987;6:3341-51.
10. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, Le C, Warrick A, Patterson J, et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6821-8.
11. Mishra PJ, Ha L, Rieker J, Sviderskaya EV, Bennett DC, Oberst MD, et al. Dissection of RAS downstream pathways in melanomagenesis: A role for Ral in transformation. *Oncogene.* 2010;29:2449-56.
12. Swick JM, Maize Sr JC. Molecular biology of melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67:1049-54.
13. Goel VK, Lazar AJ, Warneke CL, Redston MS, Haluska FG. Examination of mutations in BRAF, NRAS, and PTEN in primary cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol.* 2006;126: 154-60.
14. Bauer J, Kilic E, Vaarwater J, Bastian BC, Garbe C, de Klein A. Oncogenic GNAQ mutations are not correlated with disease-free survival in uveal melanoma. *Br J Cancer.* 2009;101:813-5.
15. Sisley K, Doherty R, Cross NA. What hope for the future? GNAQ and uveal melanoma. *Br J Ophthalmol.* 2011;95:620-3.
16. Carnero A. The PKB/AKT pathway in cancer. *Curr Pharm Des.* 2010;16:34-44.
17. Lozano MD, Labiano T, Echeveste JI, Montana M, Gomez N, Sanmamed MF, et al. Feasibility and reliability of the assessment of BRAF and c-KIT mutations in cytologic samples from metastatic melanoma. *ASCO Meeting Abstracts.* 2011;29:8575.
18. Halait H, Demartin K, Shah S, Soviero S, Langland R, Cheng S, et al. Analytical performance of a real-time PCR-based assay for V600 mutations in the BRAF gene, used as the companion diagnostic test for the novel BRAF inhibitor vemurafenib in metastatic melanoma. *Diagn Mol Pathol.* 2012;21:1-8.
19. Kirschner M, Helmke B, Starz H, Benner A, Thome M, Deichmann M. Preponderance of the oncogenic V599E and V599K mutations in the B-raf kinase domain is enhanced in melanoma lymph node metastases. *Melanoma Res.* 2005;15:427-34.
20. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2011;29:1239-46.
21. Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, Millikan RC, Groben PA, Hao H, et al. Number of nevi and early-life ambient UV exposure are associated with BRAF-mutant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:991-7.
22. Anderson S, Bloom KJ, Vallera DU, Rueschoff J, Meldrum C, Schilling R, et al. Multisite analytic performance studies of a real-time polymerase chain reaction assay for the detection of BRAF V600E mutations in formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens of malignant melanoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136:1385-91.

23. Buery RR, Siar CH, Katase N, Gunduz M, Lefeuvre M, Fujii M, et al. NRAS and BRAF mutation frequency in primary oral mucosal melanoma. *Oncol Rep.* 2011;26:783-7.
24. Abu-Abed S, Pennell N, Petrella T, Wright F, Seth A, Hanna W. KIT gene mutations and patterns of protein expression in mucosal and acral melanoma. *J Cutan Med Surg.* 2012;16:135-42.
25. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med.* 2011;364:2507-16.
26. Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: A multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;380:358-65.
27. Hersey P, Gallagher S. A focus on PD-L1 in human melanoma. *Clin Cancer Res.* 2013;19:514-6.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA INFECCIOSA DE LA SEAP-IAP.

Introducción

Emilio Mayayo Artal, coordinador del club.

Correspondencia: emilio.mayayo@urv.cat

A nadie se le pasa por la cabeza que desde el club de Patología Infecciosa pretendamos dogmatizar en cómo el patólogo debe realizar su trabajo. Hay muchos, puede que demasiados, factores intrínsecos y extrínsecos a los servicios que hacen modificar las maneras de trabajar. El principal factor son los recursos con los que contamos en cada uno de los diferentes lugares donde vamos a realizar nuestras actividades. A esto hay que añadir las filias o inclinaciones profesionales del patólogo. Desde el grupo de trabajo en patología infecciosa, lo primero que pretendemos es el alertar a todos nuestros compañeros de la importancia de esta patología como causa y como desencadenante de muchas alteraciones morfológicas a nivel subcelular, celular y tisular. Cada vez se están viendo más correlaciones entre los agentes biológicos y diversos cánceres, o bien nuevos agentes patógenos que son causa de morbi-mortalidad en los pacientes. Con el presente escrito pretendemos exponer los requisitos básicos de acción que debemos tener a la hora de enfrentarnos con este tipo de patología. Nuestras pretensiones son ir ampliando las recomendaciones para homogenizar la manera de trabajar de los patólogos.

Requisitos básicos para los estudios de Patología Infecciosa.

Emilio Mayayo Artal ⁽¹⁾ y Cristian Perna Monroy ⁽²⁾

(1) Hospital Universitario Juan XXIII. Tarragona. Universidad Rovira i Virgili. Reus-Tarragona

(2) Hospital Universitario de Guadalajara. Universidad de Alcalá de Henares.

RESUMEN

Antecedentes.- A fin de poder profundizar en el estudio de patologías específicas y disponer de grupos de patólogos conocedores del complicado mundo de la Patología, la SEAP consideró oportuno la creación de sus Clubes. Poco a poco fueron apareciendo agrupaciones de patólogos con las mismas inquietudes en un mismo campo de trabajo para sacar mayor rendimiento y tener referencias en temas concretos. Con la idea de conocer más y mejor la Patología Infecciosa, un pequeño grupo de entusiastas patólogos crearon en el año 2001 el Club de Patología Infecciosa (CPI).

Estado actual.- Hemos de reconocer que la Patología Infecciosa (PI) es una patología emergente en nuestros hospitales y en todos nuestros lugares de trabajo. A pesar de los avances científicos, de los nuevos fármacos específicos, de los nuevos procesos de diagnóstico, de las múltiples herramientas de prevención como son las nuevas vacunas, la patología infecciosa sigue estando bien presente en muchos pacientes que llegan a nuestros hospitales y a nuestros servicios. Pero para muchos patólogos la PI sigue siendo la gran olvidada.

A pesar de ello, los miembros integrantes de CPI poco a poco, paso a paso han ido introduciendo en las mentes de los patólogos la necesidad de profundizar en el estudio de la PI. Sin olvidarse de estrechar lazos con otras sociedades científicas sobre todo latinoamericanas, cuyos países tienen gran riqueza en este tipo de patología, como son SLAP, SCAP. También con diversas asociaciones y grupos que tienen como motivación el conocimiento de los agentes biológicos causantes de patología infecciosa tanto en humanos como en animales. Fruto de estas relaciones han sido las muchas participaciones en congresos de la SLAP, SCAP, así como de SEAP. Así como, la realización conjunta de varios cursos y seminarios, actividades médicas diversas en relación a la Patología Infecciosa.

Proyectos de futuro.- El CPI debe seguir con su labor establecida dentro de SEAP, sin olvidar a la SEC. Los miembros del club consideramos que la PI es muy importante y está poco potenciada en los diversos servicios de Anatomía Patológica de nuestro país. Hay que profundizar en su estudio para obtener resultados espectaculares. Mientras que la patología tumoral en los Servicios de Anatomía Patológica podría estar en disminución, los agentes infecciosos llevan mucho tiempo demostrando su capacidad de evolucionar y mutar para poder seguir produciendo enfermedades. Además, también han demostrado su capacidad para producir neoplasias.

I. INTRODUCCIÓN

Los cultivos, técnicas moleculares, PCR o bien técnicas de inmunohistoquímica son muy importantes para la realización del diagnóstico de las patologías infecciosas, aunque nunca podrán diferenciar una colonización de una invasión verdadera. Es entonces cuando el estudio histopatológico es una herramienta muy útil, buena y básica para el diagnóstico de una infección.

No se debe olvidar que los cultivos convencionales frecuentemente fallan (no es tan taxativo si en los laboratorios se dispone de metodología moderna como es el MALDI TOF) o bien no se han podido realizar, o cuando los agentes biológicos no pueden ser cultivables como ocurre con *Pneumocystis jirovecii*, es entonces cuando **el material depositado en manos del patólogo es vital para el diagnóstico**, y demasiadas veces es el único del que se dispone.

Los estudios citológicos, las biopsias y desafortunadamente las autopsias son campos de trabajo en los que se debe y puede hacer un rápido y más que correcto diagnóstico. ¿Qué especialidad puede emitir un diagnóstico de una patología en 5-10 minutos? Los patólogos si podemos. ¿Existe un mayor y mejor rendimiento en el trabajo? Nuestra producción es rentable, muy rentable para una economía maltrecha. Lo que no sabemos es venderla, nos falta marketing.

Para afrontar el estudio de la Patología Infecciosa en nuestro trabajo cotidiano, solamente hay que saber y aprender, seguir siempre aprendiendo. Pongamos por ejemplo la realización del diagnóstico de una criptococosis meníngea en un paciente inmunocomprometido/suprimido. Mediante la extracción de líquido cefalorraquídeo, y depositando una gota de dicho líquido en un portaobjetos, añadiendo una sola gota de tinta china (Parker) y su observación en el microscopio, el hallar presencia de esporas aisladas de hongo con halo claro a su alrededor son patognomónicas de infección por *C. neoformans*. Rotundamente, ningún otro facultativo puede ser tan rápido y tan preciso en realizar un diagnóstico, salvo que nos quiten esta metodología de nuestras manos y de nuestros servicios. Por lo que nos atañe, debemos reivindicar lo nuestro y lo nuestro es dar diagnósticos. Nuestros compañeros de laboratorio, no lo olvidemos nunca, no emiten diagnósticos. Sólo dan resultados. Solamente los patólogos estamos capacitados para emitir diagnósticos, como médicos y como especialistas altamente cualificados.

No solamente tenemos potestad de diagnosticar hongos patógenos de forma rápida. Podemos hacerlo con otros géneros y especies de agentes biológicos. Debe recordarse que al realizar una PAAF de un ganglio, si en la tinción ultrarrápida que se acostumbra a hacer para valorar el material, observamos un claro patrón inflamatorio, una sencilla tinción de Giemsa nos permite observar la presencia de diversos *amastigotes de leishmania* intra o extracelulares, que son fácilmente reconocibles con una mínima experiencia, y nos hace llegar al diagnóstico de un *Kala-azar*. Sencillo y espectacular.

No olvidar nunca que cuando abordamos un cuadro de patología infecciosa, en el tipo de muestra que sea, no solamente se trata de observar a los diversos agentes patógenos. Si en base a la forma, tamaño y características morfológicas o tintoriales emitimos un diagnóstico, también podemos y debemos valorar la respuesta inflamatoria, el tipo de respuesta y el grado de inflamación que se produce en la matriz extracelular. Su valoración nos puede ayudar a valorar el grado de inmunidad que presenta el huésped para alertar a los clínicos de las posibles repercusiones que puede presentar el paciente de cara a su respuesta terapéutica y evolutiva de la enfermedad a la que se enfrenta.

Si es importante conocer el grado de respuesta inflamatoria, no es menos saber el patrón que se produce o la especificidad de respuesta. Así una respuesta de polinucleares nos induce a pensar en un proceso agudo; una respuesta con abundantes eosinófilos a una parasitosis y una respuesta rica en linfocitos en una infección crónica. De esta manera, no olvidar nunca que la respuesta inmunológica-inflamatoria que puede presentar el enfermo es muy orientativa del tipo de patología que tiene. La observación de un granuloma necrotizante con presencia de células epitelioides, células gigantes multinucleadas y corona linfocitaria a su alrededor nos induce a pensar en primer lugar a un proceso patológico por micobacterias. Es bien conocido que estas se deben confirmar. Así, por medio de sencillas técnicas de histoquímica es fácil poner de evidencia los bacilos ácido-alcohol resistentes en los citoplasmas de las células gigantes multinucleadas. De forma sencilla y en base a patrones morfo-pa-

tológicos es cómo vamos estructurando en nuestras mentes sencillos esquemas para poder llegar a la realización de los diagnósticos.

Además, no olvidar nunca que **el patólogo debe cumplir y hacer cumplir** las leyes, las normas, las ordenanzas que le atañen. Las debe conocer y hacer cumplir a sus compañeros y colaboradores. Si la OMS establece unas categorías para las enfermedades infecciosas es por algo. No debemos ser más papistas que el papa y si un *virus Ébola* es de máximo nivel, nivel IV, es por su peligrosidad. Para trabajar con este virus o semejantes, debemos y debemos exigir medios y ser prudentes y muy meticulosos. Los agentes biológicos no entienden de ciencia, nos pueden infectar y llevar a la muerte si no somos conscientes del potencial peligro que llevan.

Para finalizar esta densa introducción, que se podría alargar de manera pesada para el lector, debemos exigir a los directivos y a los políticos sanitarios que no dejen de lado y marginen la patología infecciosa en el campo que sea, sin olvidar el terreno de la Patología. Se deben **dotar correctamente los servicios** y se deben aportar los recursos necesarios con los que poder llegar al diagnóstico más preciso posible (si lo intentamos en patología tumoral ¿porqué no en patología infecciosa?). No hay que olvidar que la PI siempre nos va a acompañar y que no la debemos ladear. El patólogo que menosprecie la PI, siempre será un mal profesional y un pésimo patólogo.

II. PLANIFICACIÓN LABORAL

Planificar el trabajo de los otros puede ser muy peculiar. Cada cual debe ir estructurando su manera de actuar en **base a los recursos que posee y como le dejan**. Nos viene a pedir de boca el famoso refrán: "Cada maestrillo tiene su librillo" En cada servicio se puede estructurar como se considere, mucho depende del volumen de trabajo que se genera y de la predisposición de los facultativos hacia este tipo de patología. Como en todo, se dará más importancia a unas u otras áreas de la patología según sus carteras de servicio.

Todo patólogo está más que capacitado para poder llegar a un diagnóstico en PI, no es nada difícil el observar las preparaciones y orientar el tipo de patología. El problema se plantea ante imágenes excepcionales y poco habituales. Es entonces cuando un buen fondo bibliográfico o bien una buena comunicación telemática nos puede acercar a un diagnóstico por comparación. Siempre nos quedará el mandar el caso a consulta a un centro de referencia o a un patólogo de referencia. El envío puede realizarse de manera tradicional, laminillas y bloques por correo o mensajería o bien de forma más moderna empleando la telepatología.

Sin embargo se debe disponer de una metodología de trabajo o de acción ante todos los casos de PI. Metodología clásica que se emplea en todo laboratorio o servicio de patología. Muchas veces no es necesario llegar a disponer de sofisticados aparatos o tinciones/técnicas muy desarrolladas, basta con buenas tinciones de histoquímica o de inmunohistoquímica para lograr el objetivo, un buen diagnóstico.

La meticulosidad es norma básica. Disponer de profesionales que desean trabajar de forma específica favorece mucho el obtener buen material en el que buscar la patología.

- a) **Estudios citológicos:** La citología es una herramienta de diagnóstico muy útil y completa. Se debe tener experiencia para poder emitir diagnósticos especiales. No es difícil el realizarlos y se pueden hacer **de manera muy rápida** o bien se refleja en el excelente trabajo (entre otros) de Powers acerca del diagnóstico de las enfermedades infecciosas desde el punto de vista de la citología.

El componente inflamatorio acompañante y la presencia de las formas bien conocidas de los diversos agentes infecciosos, es una alerta para etiquetar la patología como de causa no tumoral.

Sobre las extensiones citológicas podemos realizar todo tipo de **tinciones, histoquímicas o inmunohistoquímicas**. Si no se ha tenido la precaución de reservar sin teñir algunos portas, estos se puede desteñir y reteñir, aunque se pierde bastante fiabilidad.

Al realizar la valoración del componente biológico, pensar que es tridimensional y no se ha seccionado, hecho que puede variar un tanto la observación habitual en las biopsias. Es aconsejable el mover el condensador, el micrométrico y la intensidad lumínica para matizar los elementos a estudio.

Un campo especialmente útil donde la citología es muy valiosa es en la PAAF de adenopatías clínicamente patológicas, sobre todo en las cervicales. Aunque algunas de ellas corresponderán a procesos neoplásicos hematolinfoides que derivarán posteriormente en biopsia, sin embargo, gran parte de las mismas serán procesos inflamatorios y/o infecciosos. El citopatólogo es capaz de reconocer de una manera rápida y fiable patrones como la linfadenitis granulomatosa necrotizante (mayoritariamente micobacteriosis en nuestro medio) o linfadenitis granulomatosa no necrotizante con granulomas de pequeño tamaño (contrapartida citológica del Píringer-kuchinka y altamente sospechosa de primoinfección por *Toxoplasma gondii*).

- b) **Estudios biópsicos:** Las biopsias, incluido el estudio de las piezas quirúrgicas, es el material de trabajo de excelencia de los patólogos.

Todo servicio e inclusive laboratorio de Patología, posee múltiples protocolos de trabajo. En relación al producto recibido, puede variar la manera de su manejo, pero siempre, de cara al resultado final tenemos tres apartados bien caracterizados: **descripción macroscópica, descripción microscópica y diagnóstico**, a los que se les puede añadir comentarios, *addendums* o lo que se considere.

En base a los antecedentes recibidos o localizados mediante TIC, el prosector y el firmante del documento procederá a realizar sus acciones, con las medias de protección pertinentes. Siempre (si se puede) al proceder a realizar la descripción macroscópica, si se intuye el tipo de patología que asienta en el producto a estudio se debe, si es preciso, reservar y guardar muestra en fresco o en congelación. Si se intuye un claro proceso infeccioso, solicitar cultivo o sembrar las placas necesarias si se dispone de ellas en el laboratorio.

En el estudio microscópico de todo proceso infeccioso, hay que ser muy cauto y realizar las tinciones de histoquímica necesarias para poner de manera más manifiesta la morfología de los agentes biológicos. En patología por hongos, hay que realizar siempre, además de H-E, las tinciones de PAS y Grocott (plata de Gomori modificada) y si es necesario se podrá realizar tinciones de Fontana-Masson y Mucicarmin. Para bacterias, las mencionadas al igual que para virus y parásitos.

No sería ningún abuso o un derroche económico el realizar estudios de Inmunohistoquímica, PCR o biología molecular, cuando ya se ha orientado el diagnóstico y si se puede disponer de ellos, que no todos los patólogos disponemos en nuestros entornos de estas posibilidades técnicas.

Mucho estudio, experiencia y antes de emitir un diagnóstico poco frecuente, realizar las **consultas pertinentes** a colegas con mayor hábito en patología infecciosa.

- c) **Estudios autópsicos:** Ante la realización de una intervención de alta complejidad es muy importante el conocimiento de la historia clínica y de las causas del deceso, los cuales deben de prevalecer en la correcta planificación del abordaje de este acto médico. La posibilidad de estar ante un proceso infeccioso grave y peligroso para el prosector y los que ayuden en la necropsia debe tenerse en cuenta siempre. El prosector no puede comprometerse en un futuro con problemas de salud e inclusive legales importantes. No es negarse a realizar un acto médico, es evitar complicaciones graves. Cuando no se puede o no se debe, no hay que empezar la autopsia. Existe una compleja normativa y numerosa legislación al respecto que se debe conocer y hacer conocer.

Durante la realización de la autopsia se procurará realizar todo lo establecido para orientar el diagnóstico. Se pueden hacer tomas citológicas para su observación rápida o inclusive biopsias por congelación para confirmar sospechas. No olvidar de tomar muestras diversas, estandarizadas o no, para cultivos. Además de la congelación de fragmentos de las zonas lesionadas o de líquidos (LCR, sangre, ascítico, etc) para poder disponer a posteriori de posibilidades diagnósticas.

En los estudios posteriores a la autopsia, procederemos como ante cualquier muestra de tipo biópsico.

III. AGENTES BIOLÓGICOS

Queremos finalizar con unas escuetas consideraciones sobre los elementos patógenos que con podemos encontrar en nuestros estudios patológicos.

Existen infinidad de agentes biológicos que conviven con la humanidad desde los tiempos más remotos. Afortunadamente no todos son patógenos. Pero, en el momento actual se van descubriendo nuevas características, modificaciones o peculiaridades que los pueden hacer agresivos para el hombre. Además, están apareciendo nuevos agentes biológicos que causan patologías, graves patologías en los humanos y sin olvidar los animales. Agentes que también pueden ser usados como **armas de bioterrorismo**.

Hay que mencionar que nuestras defensas, ya sea la inmunidad innata o la adquirida, son pilares muy importantes para mantener a raya a los patógenos. Desafortunadamente hay muchos factores que favorecen que estos agentes se hagan más virulentos o adquieran características que hacen que nos agredan con mayor facilidad. Son numerosos los factores que favorecen las infecciones, podemos recordar los más importantes como son: La aparición de nuevas enfermedades que destruyen las defensas orgánicas como ha sido y es el SIDA; el abuso de antibióticos u otros fármacos como los corticoides; la infinidad de tumores malignos y sus acciones terapéuticas; las agresivas intervenciones quirúrgicas; el empleo de instrumentos que se introducen en el organismo; enfermedades como diabetes, inmunosupresoras o la misma edad. Un sinfín de causas que son favorecedoras de que a nuestro organismo lleguen diferentes tipos de agentes biológicos, la mayor parte de ellos microscópicos.

Cinco son los grandes grupos de agentes biológicos los que nos van a producir alteraciones graves o no tan graves. Dependiendo de la puerta de entrada, la localización, la cantidad de agentes biológicos o inclusive de la rapidez de multiplicación, nos producirán afectaciones locales, no tan graves, o infecciones sistémicas que si no se atajan con rapidez, pueden ser causa de muerte.

Por ello, es muy importante la realización de un diagnóstico de prontitud y a ser posible lo más certero y específico posible. En relación a este diagnóstico podremos instaurar diversas pautas terapéuticas de las que, afortunadamente, disponemos en los tiempos que vivimos debido a que la industria farmacéutica ha elaborado y está fabricando nuevas moléculas y fármacos con los que combatir las enfermedades infecciosas.

Los cinco grupos de patógenos establecidos en la actualidad son: **bacterias, virus, hongos, algas y parásitos**.

Las características morfológicas de **tamaño, forma, apetencias tintoriales y tipo de respuesta orgánica que generan son los elementos claves que debemos tener presentes para el diagnóstico**. El **tamaño** es una de las características a tener muy en cuenta y en relación a esta especificación se utilizará una u otra metodología o instrumentación para el diagnóstico. Por tanto, para el estudio de los virus y por su tamaño es necesario el uso del microscopio electrónico, aunque los cambios citopáticos indirectos que producen en los citoplasmas o en los núcleos nos hacen pensar en infecciones producidas por estos elementos. Los cuerpos de inclusión (Guarnieri o Negri), la coilocitosis o inclusive la multinucleación, son muy orientativos de presencia de virus en las células. Los grandes cuerpos de inclusión intranucleares que producen los citomegalovirus son muy característicos de una infección por herpes virus tipo V.

Para los otros agentes biológicos, bacterias, hongos, parásitos basta con un microscopio convencional para su observación. Muchas veces es necesario disponer de objetivos de altos aumentos para mejorar la observación. En referencia a los parásitos, que pueden llegar a medir más de un metro, no sólo las formas adultas son expresivas de la etiología parasitaria, pueden ser las larvas y sobre todo los huevos los que nos ayuden a dar con el diagnóstico del proceso.

Son de gran ayuda las **técnicas histoquímicas** como *Giemsa, Grocott, PAS, Ziehl-Neelsen, Kinyoun, Wharthin-Starry, Steiner, Dieterle* o un simple *Gram*, para poder matizar las características de los agentes biológicos, sobre todo los de etiología bacteriana. Más específicas son las de **inmunohistoquímica**, pero se debe disponer de un amplio arsenal de anticuerpos mono o policlonales que precisan muchísimo la identificación etiológica de un proceso infeccioso. Como se ha comentado en la introducción, las técnicas de biología molecular y sobre todo los cultivos son altamente resolutivos y nos ayudarán específicamente a precisar la etiología de las causas de cambios inflamatorios en los tejidos.

No queremos finalizar sin hacer una llamada de atención y demandar gran cuidado cuando se vaya a realizar un diagnóstico, sobre todo si es poco habitual y raro para nuestras latitudes. Hay numerosos artefactos y contaminantes tanto intrínsecos como extrínsecos que nos pueden hacer confundir un diagnóstico. La prudencia es una virtud que siempre debe estar presente en la mente de los patólogos.

CONCLUSIONES

- El patólogo no debe olvidarse de la patología infecciosa y es un campo de trabajo cotidiano de la que puede extraer mejores rendimientos.
- La rapidez del diagnóstico que se puede hacer con la citología y la biopsia es muy importante ante procesos graves que necesitan de un diagnóstico de prontitud, que no se consigue con los cultivos.
- La patología infecciosa es un campo de trabajo muy importante para los patólogos. Siempre tendremos de material en el que realizar un diagnóstico y nunca nos va a faltar. Puede que otros campos de la patología se vean alejados de la morfología debido a los enormes avances científicos que pueden ir a parar a manos de otras especialidad como son genetistas o moleculares.
- Se ha de profundizar en el estudio de la patología infecciosa, como se hace en otras materias, por ejemplo la patología tumoral. Si se consigue, los resultados son más brillantes y específicos, siendo un gran beneficio para los pacientes.
- Con técnicas rápidas y económicas, basándonos en morfología y en cambios en el tercer sistema o matriz extracelular, se obtienen diagnósticos muy específicos.
- Hay que tener prudencia y no aventurarse a realizar diagnósticos "de oído"
- Hay que ir en consonancia y en coordinación con otras especialidades como por ejemplo microbiología, medicina interna, cirugía, para conseguir una concordancia diagnóstica.

Bibliografía

1. Puras A, Montes M, Fernández P et al. Expresiones morfológicas de las infecciones fúngicas graves. Participación del patólogo en el diagnóstico. Rev Iberoam Micol 2000;17:34-40.
2. Powers CN. Diagnosis of infectious diseases. A cytopathologist's perspective. Clin Microb Rev 1998;11:341-65.
3. De Berker D. Fungal nail disease. N Engl J Med 2009;360:2108-16.
4. Schofield DA, Westwater C, Pauling EE et al. Detection of *Candida albicans* mRNA from formalin-fixed, paraffin-embedded mouse tissues by nested reverse transcription-PCR. J Clin Microbiol 2003;41:831-4.
5. Artal R, Ágreda B, Serrano E et al. Mucormicosis rinocerebral: a propósito de ocho casos. Acta Otorrinolaringol Esp 2010;61:301-5.
6. Martino M, Villoria F. Proceso infeccioso en paciente inmunodeprimido. REA: EJAutopsy 2011;9:7-8.
7. Chojniak R, da Costa RA, Lopes A, et al. Intestinal paracoccidioidomycosis simulating colon cancer. Ver Soc Brás Méd Trop 2000;2000:33:309-12.

8. Gerhard R, Carrasco P, Villas T et al. Fine-Needle aspiration biopsy of disseminated sporotrichosis. A case report. *Diagn Cytopathol* 2008;36:174-7.
9. Perna C, Cuevas J, Hardisson D et al. Valoración anatomopatológica e inmunohistoquímica frente a *Treponema pallidum* en 42 biopsias con sospecha clinicopatológica de sífilis. *Rev Esp Patol* 2011;44:145-50.
10. Perna C, Rodrigues-Figueira Y, Morales C et al. Revisión de casos con diagnóstico de toxoplasmosis en el Hospital La Paz de Madrid (1967-2010). *Rev Esp Patol* 2012;45:5-13.
11. Mayayo E. Patología infecciosa. *Rev Esp Patol* 2011;44:189-90.
12. Mayayo E. Tercer reino. *Rev Esp Patol* 2013;46:1-2.
13. Mayayo E. Histopatología de las micosis. *Rev Iberoam Micol* 2004;21:1-9.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE LINFOMAS DE LA SEAP

Introducción

Santiago Montes Moreno, coordinador del club

Correspondencia: smontes@humv.es

1. OBJETIVO DE LAS GUÍAS DE CONSENSO

El avance en la investigación en el área de patología oncohematológica aporta continuamente nuevos marcadores con potencial valor diagnóstico, pronóstico y predictivo de respuesta a terapias dirigidas. Es tarea del hematopatólogo conocer y participar activamente en este avance así como incorporar gradualmente en su práctica diaria aquellos marcadores que sean validados en el ámbito clínico (1). No obstante, la evidencia disponible en la literatura basada en ensayos clínicos y estudios observacionales (niveles de evidencia I y II) acerca de la aplicabilidad de marcadores diagnósticos en el campo de la hematopatología es escasa y se requiere con frecuencia un consenso de expertos en la materia para generar documentos de recomendaciones sobre aspectos relacionados con diagnóstico en hematopatología (2, 3).

Así, la principal finalidad de estas guías es servir al patólogo general, hematopatólogo y hematólogo dedicado al diagnóstico el producto de la evidencia disponible filtrado por un comité de expertos que matizan las recomendaciones en función, esencialmente, de la aplicabilidad de la técnica y de su relevancia clínica. Se deriva de esto que las guías definen el catálogo de técnicas diagnósticas que se deben utilizar en un laboratorio de hematopatología y la forma en que se integran en el proceso diagnóstico. Adicionalmente se incluyen recomendaciones específicas sobre otros aspectos menos técnicos del proceso diagnóstico como la interpretación de patrones histopatológicos y consideraciones sobre los criterios utilizados en el diagnóstico de cada entidad y su aplicación cotidiana (4).

Aunque es indudable que la terapia de cada paciente y su pronóstico depende en buena medida del diagnóstico histopatológico y de algunos de los marcadores complementarios utilizados en este proceso, la decisión acerca de la mejor terapia para cada paciente se debe tomar en comités multidisciplinares(2). Existe toda una serie de marcadores biológicos clínicos (por ejemplo edad del paciente y estadiaje), esencial en muchos casos en la identificación de la mejor terapia para cada caso, que se deben valorar en conjunto

con los datos histopatológicos y moleculares en la toma de decisión clínica. A este respecto existen guías clínicas de referencia (3). Así, el objetivo al desarrollar estas guías de consenso a nivel nacional es normalizar la aplicación de los criterios diagnósticos y los métodos complementarios empleados en el mismo en patología oncohematológica linfoide.

Específicamente se pretende que las guías aquí desarrolladas provean:

- Recomendaciones acerca de los métodos óptimos de obtención de muestras para diagnóstico y el uso y procesamiento adecuado de las muestras e incorporación del excedente a biobancos.
- Orientación del catálogo de técnicas de uso clínico en el ámbito del diagnóstico hematopatológico (estudio morfológico, inmunohistoquímico y de citometría de flujo, FISH y moleculares). Recomendaciones acerca de condiciones técnicas y de interpretación óptimas.
- Orientación acerca del abordaje diagnóstico óptimo en el ámbito de la hematopatología con énfasis en los criterios diagnósticos vigentes, diagnóstico diferencial y potenciales errores diagnósticos.
- Indicación de marcadores diagnósticos de utilidad pronóstica y con potencial carácter predictivo de respuesta a terapia.

2. MÉTODO DE GENERACIÓN DE LAS GUÍAS

Un grupo de siete hematopatólogos expertos (Santiago Montes Moreno, Juan Fernando García, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Antonio Martínez, María Rodríguez Pinilla, Jose Luis Villar), tres hematólogos especialistas en diagnóstico hematológico (Ramón García Sanz, María Rozmán y Ana Batlle) y un médico oncólogo especialista en patología hematolinfóide (Mariano Provencio) realiza una revisión exhaustiva de la literatura disponible y genera unos documentos tipo con capítulos dedicados a apartados generales y capítulos específicos para cada entidad nosológica. Al final de cada capítulo se derivan unas recomendaciones específicas. Los niveles de evidencia son los utilizados por la US Agency for Health Care Policy and Research (véase tablas 1 y 2).

Estos documentos se revisan en conjunto por el grupo redactor. Las recomendaciones producto de estos documentos revisados se someten a consenso por el grupo redactor utilizando un sistema de votación sobre un cuestionario. Las opiniones sobre cada ítem se miden utilizando una escala Likert de 4 puntos oscilando desde “muy de acuerdo” a “muy en desacuerdo”. El consenso se define como el apoyo de más del 70% de los expertos a un elemento, habiendo respondido con “muy de acuerdo” o “de acuerdo”. El documento final incluye el texto principal de cada capítulo y las recomendaciones finalmente consensuadas específicas de cada capítulo al final del mismo. El documento guía se revisará y actualizará con una periodicidad bienal.

TABLA 1. Niveles de evidencia

Ia	Evidencia obtenida de meta-análisis de ensayos clínicos randomizados.
Ib	Evidencia obtenida de al menos un ensayo clínico randomizado.
Ila	Evidencia obtenida de al menos un ensayo bien diseñado, no randomizado, incluyendo ensayos en fase II y estudios de tipo caso-control.
IIb	Evidencia obtenida de al menos un ensayo de otro tipo,, bien diseñado, cuasi.experimental, por ejemplo estudios no intervencionistas, incluyendo estudios observacionales.
III	Evidencia obtenida de estudios descriptivos no experimentales bien diseñados. Evidencia obtenida de metaanálisis o ensayos clínicos randomizados o estudios de fase II publicados sólo como resumen a congreso.
IV	Evidencia obtenida de informes de comités de expertos u opiniones y/o experiencia clínica de autoridades en el campo.

TABLA 2. Grados de recomendación.

Grado A. Evidencia nivel Ia, Ib	Recomendación basada en al menos un ensayo clínico randomizado de buena calidad y consistencia, enfocado específicamente en la recomendación.
Grado B. Evidencia nivel Ila, IIb, III	Recomendación basada en estudios bien planificados pero no ensayos clínicos randomizados acerca del tema de la recomendación.
Grado C. Evidencia nivel IV	Evidencia basada en informes de comités de expertos y/o experiencia clínica de autoridades en el tema.

REFERENCIAS

1. Montes-Moreno S, López-Ríos F. Patología molecular y dianas terapéuticas. Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España. España, 2013.
2. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
3. NCCN. NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas. v 1.2013 ed, 2013.
4. Swerdlow SH CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.

Recomendaciones para el estudio histopatológico, inmunohistoquímico, citogenético y molecular e informe diagnóstico de los procesos neoplásicos linfoides.

Consenso SEAP-SEHH-GOTEL.

Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP).

Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH).

Grupo Oncológico para el Tratamiento y Estudio de los Linfomas (GOTEL).

Grupo de trabajo: Santiago Montes Moreno⁽¹⁾, Manuela Mollejo Villanueva⁽²⁾, Máximo Fraga⁽³⁾, Juan Fernando García⁽⁴⁾, José Luis Villar⁽⁵⁾, Antonio Martínez⁽⁶⁾, Socorro María Rodríguez Pinilla⁽⁷⁾, Ana Batlle⁽⁸⁾, Mariano Provencio Pulla⁽⁹⁾, María Rozmán⁽⁶⁾, Ramón García Sanz⁽¹⁰⁾.

(1) Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander, España.

(2) Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Virgen de la Salud, Toledo.

(3) Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, Santiago de Compostela

(4) Servicio de Anatomía Patológica, Hospital MD Anderson, Madrid.

(5) Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla.

(6) Unidad de Hematopatología, Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Clinic, Barcelona.

(7) Servicio de Anatomía Patológica, Fundación Jiménez Díaz, Madrid.

(8) Unidad de Citogenética Hematológica, Servicio de Hematología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla/IDIVAL, Santander.

(9) Servicio de Oncología Médica, Hospital Puerta de Hierro, Madrid.

(10) Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

Fecha de revisión: Esta guía publicará en Mayo de 2015. La actualización de la misma se espera en Mayo de 2017.

Descargo de responsabilidad: Aunque el contenido de las guías se considera cierto, preciso y actualizado en el momento de la publicación, ni los autores, ni las sociedades científicas a las que representan aceptan ninguna responsabilidad legal en relación con el contenido ni el potencial uso de las mismas. Los autores no tienen conflictos de interés relacionados directa o indirectamente con el contenido de las guías.

ÍNDICE

1. GUÍA GENERAL	
a. Obtención de las muestras para diagnóstico hematopatológico	85
b. Estudio histopatológico de tejidos hematolinfoides.....	89
c. Estudio inmunohistoquímico. Aplicación del inmunofenotipado de neoplasias linfoides	91
d. Estudio citogenético-FISH.....	95
e. Estudio molecular.....	102
f. Informe diagnóstico	107
2. LINFOMAS B NO HODGKIN	
a. Linfomas B indolentes	109
b. Linfomas B agresivos	135
c. Plasmocitoma / GMSI/ Mieloma Múltiple	148
3. LINFOMAS DE HODGKIN. LINFOMAS B INTERMEDIOS ENTRE LH Y LBDCG	152
4. LINFOMAS T Y T/NK	
a. Linfomas/Leucemias linfoblásticas (B y T)	156
b. Linfomas T ganglionares: linfoma T periférico, linfoma T angioinmunoblástico, linfoma anaplásico ALK+ y ALK	159
c. Leucemia de linfocitos grandes granulares, Leucemia prolinfocítica, Linfoma hepatoesplénico, Leucemias NK, Linfomas enteropáticos y Síndromes linfoproliferativos T pediátricos asociados a VEB.....	167
5. LINFOMAS PRIMARIOS CUTÁNEOS.....	173
6. NEOPLASIAS DE CÉLULAS HISTIOCÍTICAS. NEOPLASIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS.....	181

1. GUÍA GENERAL

1a. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO.

Autor para la correspondencia: Santiago Montes Moreno. smontes@humv.es

BIOPSIA DE TEJIDO

La biopsia de tejido es necesaria para establecer el diagnóstico de procesos linfoproliferativos, especialmente en los casos con afectación ganglionar predominante o no leucémicos. La biopsia no sólo permite establecer un diagnóstico de linfoma sino establecer el tipo histológico específico según la clasificación vigente(1), generar información pronóstica y eventualmente orientar la terapia. Asimismo, el material excedente diagnóstico, adecuadamente procesado, se podrá incorporar a los biobancos de tejido para futuros usos en investigación biomédica. Es preciso obtener consentimiento informado del paciente para los diferentes procedimientos requeridos (obtención de la muestra, incorporación de la misma al Biobanco, etc). Es responsabilidad del clínico obtener estos consentimientos informados del paciente.

En todos los casos, la muestra debe acompañarse de una hoja de solicitud de estudio anatomopatológico con un breve resumen de los antecedentes del paciente debiéndose especificar la sospecha diagnóstica, el origen de la muestra y la hora de extracción. Los datos de índole hematológica relevantes en la orientación diagnóstica del caso deben incluirse en todo caso en la hoja de solicitud si no están accesibles en red en el centro en cuestión.

BIOPSIA DE ADENOPATÍA. TIPOS DE MUESTRAS

La biopsia de adenopatías en un paciente con sospecha de proceso linfoproliferativo debe ser suficiente para realizar los siguientes estudios:

- Análisis de la morfología en muestras fijadas en formol e incluidas en parafina (FFIP).
- Estudios de inmunohistoquímica en muestras FFIP.
- Estudios de citometría de flujo (CMF) de material en fresco. Si no es posible hacer llegar la muestra en condiciones óptimas al laboratorio de CMF se debe considerar disgregar la muestra e incluir en fijador previo al envío.
- Análisis de FISH a partir de improntas de tejido o tejido FFIP.
- Estudios moleculares (análisis de clonalidad linfoide mediante PCR, PCR cuantitativa y similares, secuenciación) a partir de ADN extraído de la muestra. La mayoría de los análisis moleculares basados en amplificación del ADN se pueden realizar a partir de tejido FFIP aunque la calidad del ADN de partida es significativamente inferior al del extraído de muestras en fresco/congeladas.
- Estudios de citogenética a partir de muestras en fresco.

Tipos de muestra:

1. Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección y debe de ser el método utilizado siempre en los casos de adenopatías superficiales/palpables. En aquellos pacientes con adenopatías profundas no accesibles a la palpación o que por su localización tienen mayor riesgo quirúrgico, la aproximación dependerá de la situación del paciente, de la sospecha diagnóstica, del tamaño así como de la adherencia a planos profundos.

*En el caso de masas en mediastino anterior para realizar un correcto diagnóstico es necesario realizar una mediastinoscopia con biopsia incisional (la rentabilidad de las muestras obtenidas mediante EBUS (eco-broncoscopia lineal) para el diagnóstico de procesos hematológicos es en general bajo) o en su defecto, una biopsia-trucut con aguja gruesa (14-16 G).

En el caso de adenopatías retroperitoneales o intraabdominales, ante un paciente con situación clínica que permita afrontar la cirugía se realizará una laparoscopia con toma de biopsia escisional/incisional. En caso de que la situación clínica del paciente no permita una cirugía (por situación general, comorbilidades,

coagulopatía etc.) o el diagnóstico de linfoma sea poco probable, se realizará una BAG (Punción biopsia con aguja gruesa)-trucut.

2. Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): Es la aproximación a utilizar en aquellos casos en los que el diagnóstico de linfoma NO sea probable o que en caso de que la sospecha sea linfoma no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Siempre que sea posible, se obtendrán 6-8 cilindros con una aguja de 14-16G. En estos casos el estudio de la muestra de BAG debe incluir siempre, además del estudio morfológico, técnicas auxiliares (citometría de flujo, inmunohistoquímica, análisis de reordenamientos mediante FISH y, en situaciones concretas, análisis de clonalidad linfoide B y T).

3. Punción aspiración con aguja fina (PAAF): A pesar de la relativa facilidad y el reducido número de complicaciones que presenta la PAAF (dirigida o no mediante técnicas de imagen), debido al escaso rendimiento diagnóstico, esta prueba NO debe de realizarse para el diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías de posible origen neoplásico linfoide (muy bajo rendimiento diagnóstico; Grado B; nivel de evidencia III)(2). No obstante puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva (3-7). Igualmente es de utilidad como medio para orientar el manejo del paciente con baja sospecha de proceso neoplásico.

Una vez realizada la biopsia, la muestra será idealmente remitida en fresco inmediatamente al laboratorio de anatomía patológica donde el patólogo se encargará de procesar y derivar con carácter urgente a los laboratorios pertinentes para los estudios especiales que requieran muestra en fresco (citometría de flujo, FISH en improntas, biología molecular y microbiología si procede) y biobanco de tejidos. Para una buena preservación del tejido, el intervalo transcurrido entre la toma de biopsia y su procesamiento no debe ser superior a 30 minutos. Si no es posible asegurar que la muestra se va a procesar en este tiempo se sumergirá intacta en formol tamponado y se enviará de la forma habitual al servicio de Anatomía Patológica.

Las muestras de biopsia incisional/escisional así como BAG destinadas a estudio histopatológico se deben fijar en formol tamponado que permite la realización posterior de estudios morfológicos, fenotípicos, de hibridación in situ y moleculares. Las muestras escisionales se deben procesar adecuadamente para asegurar una fijación homogénea (secciones de 2-5 mm de grosor perpendiculares al eje mayor del ganglio linfático). Para evitar problemas de reactividad inmunohistoquímica se debe evitar la sobrefijación (por ejemplo más de 24 horas en formol o más de 4 horas en zinc formalina o B5(8)).

La congelación de las muestras con destino biobanco o análisis molecular se debe realizar en condiciones estándar:

- Criomoldes con medio OCT que proteja la muestra.
- Inmersión en isopentano o nitrógeno líquido a -80°C.
- Almacenaje a -80°C hasta su uso.

MÉDULA ÓSEA

La muestra de aspirado de médula ósea, en conjunto con los hallazgos clínicos y en sangre periférica pueden ser suficientes para el diagnóstico de algunos procesos linfoproliferativos, particularmente aquellos con manifestaciones leucémicas (por ejemplo leucemia linfocítica crónica, leucemia de células grandes granulares, tricoleucemia, entre otros). No obstante, en los casos de proceso linfoproliferativo de localización ganglionar o visceral/ósea las muestras obtenidas de médula ósea (aspirado o cilindro de médula ósea de cresta ilíaca) no son suficientes para el diagnóstico inicial de proceso linfoproliferativo y es preciso obtener una muestra de la localización primaria de la neoplasia.

BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA

El papel de la biopsia-cilindro de médula ósea en el diagnóstico y estadiaje de los procesos linfoproliferativos está bien establecido(2). La biopsia cilindro se debe obtener idealmente de la cresta ilíaca posterior o anterior y tener una longitud de al menos 1,5 cm. Microscópicamente la muestra de biopsia debe contener

entre 7 y 10 áreas intertrabeculares. Es preferible tener en cuenta este criterio en lugar de la longitud del cilindro (al menos 1,5 cm según la OMS) pues la localización subcortical de algunas biopsias o una toma de muestra tangencial a la superficie del hueso puede limitar la representatividad a pesar de tener una longitud de 1,5 cm.

La muestra se puede fijar en medios de formol al 4% o mezclas de formol y B5 u otras aunque estas últimas requieren de un procesamiento adecuado de los residuos peligrosos. La fijación en formol al 4% permite el uso de posteriores técnicas de inmunohistoquímica y moleculares(2). Posteriormente a la fijación en formol la muestra se debe decalcificar (EDTA, mezclas de formol y ácido fórmico, etc) e incluir en parafina.

Las secciones del bloque de parafina se deben teñir con HE (secciones seriadas) y reticulina por defecto(2). La tinción de Giemsa puede ser de utilidad en determinadas circunstancias, así como el PAS y tinciones de hierro (Perls). El panel de inmunohistoquímica se debe solicitar en función de la sospecha basada en el análisis morfológico.

ASPIRADO DE MEDULA ÓSEA

La muestra de aspirado de MO es útil para análisis morfológico, citometría de flujo, inmunocitoquímica, citogenética convencional, FISH y PCR. La muestra obtenida se puede procesar en fresco en medio anticoagulante o bien fijar en formol tamponado y generar posteriormente un bloque tras FFIP (fijación en formol e inclusión en parafina).

PIEZA DE ESPLENECTOMÍA

La esplenectomía diagnóstica es una técnica en desuso en la actualidad debido a la mejora en las técnicas de caracterización fenotípica de las poblaciones linfoides en SP y MO. No obstante existe un subgrupo de pacientes que son sometidos a esplenectomías diagnósticas - terapéuticas en el contexto de enfermedades hematológicas. El procesamiento de la pieza de esplenectomía es equivalente al de la biopsia escisional de ganglio linfático. Se recomienda aislar de entrada áreas representativas del parénquima esplénico y ganglio linfático hilar de 2 mm de grosor para asegurar una fijación óptima de la muestra.

RECOMENDACIONES

1. **Bajo ningún concepto debe utilizarse la PAAF (Punción-aspiración con aguja fina) para el diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías de posible origen neoplásico linfoide (el rendimiento diagnóstico es muy bajo y existe riesgo de desvirtuar una muestra necesaria para una biopsia posterior). No obstante puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva (grado B, nivel de evidencia III).**
2. **La biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo. En los casos en que por la situación clínica del paciente se realice una BAG (Biopsia con aguja gruesa) el estudio de la muestra de BAG debe incluir siempre, además del estudio morfológico, técnicas auxiliares (citometría de flujo, inmunohistoquímica, análisis de reordenamientos mediante FISH y, en situaciones concretas, análisis de clonalidad linfoide B y T. Grado C. Evidencia nivel IV**
3. **En todos los casos, la muestra debe acompañarse de una hoja de solicitud de estudio anatomopatológico con la sospecha diagnóstica, el origen de la muestra, los datos clínicos y de laboratorio relevantes y la hora de extracción. Grado C. Evidencia nivel IV**
4. **La muestra de tejido será idealmente remitida en fresco inmediatamente al laboratorio de anatomía patológica donde el patólogo se encargará de procesar y derivar con carácter urgente a los laboratorios pertinentes para los estudios especiales. Grado C. Evidencia nivel IV**

5. Las muestras de biopsia incisional/escisional así como BAG destinadas a estudio histopatológico se deben fijar en formol tamponado que permite la realización posterior de estudios morfológicos, fenotípicos, de hibridación in situ y moleculares. El tiempo de fijación en formol debe estar controlado. Grado C. Evidencia nivel IV
6. Si se dispone de una cantidad de tejido limitada se debe priorizar el análisis morfológico y fenotípico básico a las técnicas de análisis citogenético (FISH) o molecular o inclusión de muestra en biobanco. Grado C. Evidencia nivel IV
7. El estudio citogenético de elección en muestras de tejido o improntas es FISH. Grado C. Evidencia nivel IV
8. En la mayoría de los casos de proceso linfoproliferativo (aquellos de localización ganglionar o visceral/ósea, no primariamente medulares) las muestras obtenidas de médula ósea (aspirado o cilindro de médula ósea de cresta ilíaca) no son suficientes para el diagnóstico inicial de proceso linfoproliferativo y es preciso obtener una muestra de la localización primaria de la neoplasia. Grado C. Evidencia nivel IV
9. Se debe realizar una biopsia de médula ósea de estadiaje en todos los casos con diagnóstico de proceso linfoproliferativo de localización ganglionar o visceral. Grado C. Evidencia nivel IV
10. La biopsia-cilindro de médula ósea debe contener al menos 7 espacios intertrabeculares, con una longitud aproximada de 1,5 cm. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Parker A, BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
3. Hehn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *J Clin Oncol.* 2004 Aug;22(15):3046-52.
4. Meda BA, Buss DH, Woodruff RD, Cappellari JO, Rainer RO, Powell BL, et al. Diagnosis and subclassification of primary and recurrent lymphoma. The usefulness and limitations of combined fine-needle aspiration cytomorphology and flow cytometry. *Am J Clin Pathol.* 2000 May;113(5):688-99.
5. Dong HY, Harris NL, Preffer FI, Pitman MB. Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and classification of primary and recurrent lymphoma: a retrospective analysis of the utility of cytomorphology and flow cytometry. *Mod Pathol.* 2001 May;14(5):472-81.
6. Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol.* 1998 Mar;51(3):189-96.
7. Zeppa P, Marino G, Troncone G, Fulciniti F, De Renzo A, Picardi M, et al. Fine-needle cytology and flow cytometry immunophenotyping and subclassification of non-Hodgkin lymphoma: a critical review of 307 cases with technical suggestions. *Cancer.* 2004 Feb;102(1):55-65.

8. Hussong JW, Arber DA, Bradley KT, Brown MS, Chang CC, de Baca ME, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with non-Hodgkin lymphoma/lymphoid neoplasms. Arch Pathol Lab Med. 2010 Jun;134(6):e40-7.

1b ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE TEJIDOS HEMATOLINFOIDES

Autor para la correspondencia: *Máximo Fraga* (maximo.fraga@usc.es).

1. INTRODUCCIÓN

Como en cualquier otro campo de la Patología, un examen histopatológico sistemático del tejido, usualmente teñido con Hematoxilina y Eosina, resulta clave para la elaboración de un diagnóstico diferencial adecuado. En algunos casos permite por sí solo emitir un diagnóstico, aunque estudios adicionales suelen ser necesarios, especialmente en el caso de patología neoplásica. Como siempre, es esencial para la correcta orientación diagnóstica el conocimiento del contexto clínico del paciente.

El estudio histopatológico requiere el conocimiento de los compartimentos normales y su composición celular, a fin de valorar primero la arquitectura, para obtener una impresión general y, posteriormente, analizar las características celulares. Por ello, en este capítulo revisaremos brevemente los compartimentos que deben ser examinados de forma sistemática durante el estudio histopatológico de ganglio linfático, bazo y médula ósea. Si el resultado orienta con mayor o menor probabilidad hacia una neoplasia linfoide, pueden consultarse los capítulos de esta guía dedicados a criterios diagnósticos específicos y diferenciales de las diversas entidades.

2. GANGLIO LINFÁTICO

El examen de las preparaciones sin microscopio puede ofrecer ya algunas pistas que nos guíen en el estudio microscópico posterior, tales como si el ganglio se encuentra agrandado, si la apariencia es uniforme o heterogénea, si se observan nódulos de tamaño desproporcionado, si la coloración es monótona o existen áreas diferentes, etc.

Una vez al microscopio, se debe explorar la totalidad de la estructura del ganglio, preferiblemente con un objetivo de bajo aumento tipo 2x. Veremos si la arquitectura se encuentra conservada o si, por el contrario, existe un borramiento difuso o una alteración focal de la misma. Posteriormente, con mayor aumento, atenderemos a aquellas áreas en que encontremos algo llamativo o anormal y revisaremos el resto de compartimentos ganglionares. Debemos ir consignando las alteraciones que encontremos porque nos servirán de ayuda para la elaboración del diagnóstico.

De forma sistematizada, los compartimentos que debemos evaluar son:

1. Tejido periganglionar y cápsula del ganglio linfático.

Se debe examinar el tejido periganglionar, por si existiese infiltración del mismo por alguna proliferación linfoide u otro tipo de proceso. También la cápsula, que debe ser fina y uniforme, debe ser examinada para descartar cualquier proceso infiltrativo, engrosamientos, prolongaciones fibrosas hacia el interior del ganglio, etc.

2. Folículos linfoides.

Podemos observar folículos primarios, en forma de nódulos densos constituidos por linfocitos pequeños del tipo de la zona del manto, y/o folículos secundarios, con centros germinales rodeados por un anillo de células del manto. Los centros germinales puede aparecer hiperplásicos o, por el contrario, involucionados o regresivos. Hay que prestar atención a la composición celular de los mismos, que ha de ser polimorfa (centrocitos, centroblastos, macrófagos con cuerpos tingibles...), así como a la existencia o no de polarización, etc; este tipo de características ayudan a distinguir hiperplasias de linfomas foliculares. En diferentes situaciones patológicas, la zona del manto puede estar expandida, atenuada... Con respecto a la zona marginal, en condiciones normales solo está presente en el bazo y en ganglios

mesentéricos, por lo que en ganglios periféricos su existencia siempre indica alguna alteración, ya sea de tipo reactivo o neoplásico.

3. Área paracortical o interfolicular.

Se trata de un área heterogénea, con abundantes linfocitos pequeños, linfocitos transformados más grandes, generalmente dispersos, y células dendríticas, entre otros componentes. Puede estar expandida en reacciones de tipo inmunoblástico y en linfomas, especialmente de fenotipo T.

4. Senos linfáticos.

En ocasiones aparecen prominentes, como cuando se encuentran ocupados por células que pueden ser de muy diferente naturaleza: macrófagos, células metastásicas, células neoplásicas de un linfoma anaplásico de células grandes, etc. Otras veces prácticamente no se aprecian: ganglios inactivos, ganglios en los que el crecimiento de un linfoma comprime los senos, etc.

3. BAZO

El tejido esplénico se compone de pulpa blanca, constituida por folículos linfoides y vainas linfoides periarteriolas, y pulpa roja, ricamente vascularizada. El patrón de afectación esplénico por procesos proliferativos o infiltrativos puede ser difuso o focal:

1. Con respecto al patrón difuso, algunos procesos asientan preferentemente sobre la pulpa blanca y otros sobre la pulpa roja. En el primer caso se trata fundamentalmente de hiperplasias, linfomas B de células pequeñas y linfomas T, que producen expansiones nodulares que pueden llegar a confluir. Cuando la afectación predominante es en la pulpa roja, en casos benignos esto puede responder a congestión inespecífica, anemias hemolíticas, hematopoyesis extramedular, enfermedades de almacenamiento lisosómico, etc.; en caso de malignidad, son ejemplos característicos de afectación de pulpa roja la tricoleucemia y el linfoma T hepatoesplénico, entre otros.
2. La afectación focal del bazo puede estar en relación con alteraciones de tipo muy variado, tanto benignas como malignas: seudotumores inflamatorios, quistes, linfoma de Hodgkin, linfoma B difuso de células grandes, tumores de células foliculares dendríticas, etc.

4. MÉDULA ÓSEA

En la biopsia de médula ósea se deben valorar la proporción, el grado de maduración y la topografía de las series hematopoyéticas. También se debe prestar atención al estroma: presencia o no de fibrosis, senos dilatados, ocupación sinusal por células neoplásicas, agregados o nódulos linfoides.

En el caso de las proliferaciones linfoides, el reconocimiento del patrón de infiltración medular ayuda en el diagnóstico diferencial y puede aportar información pronóstica. Habitualmente se describen 5 patrones: intersticial, nodular o focal aleatorio, paratrabecular, intrasinusoidal y difuso. Ninguno de ellos es específico de un tipo de linfoma, pero algunos sí son muy característicos, como la infiltración paratrabecular en el linfoma folicular y la infiltración intrasinusoidal en el linfoma esplénico de la zona marginal.

REFERENCIAS

1. Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA. Hematopathology. Saunders, 2010.
2. O'Malley DP, George TI, Orazzi A, Abbondanzo SL. Benign and Reactive Conditions of Lymph Node and Spleen. AFIP Atlas of Nontumor Pathology, Vol. 7. American Registry of Pathology, 2009.
3. Wilkins BS. Pitfalls in bone marrow pathology: avoiding errors in bone marrow trephine biopsy diagnosis. J Clin Pathol. 2011; 64(5): 380-6.

1c. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO. APLICACIÓN DEL INMUNOFENOTIPADO DE NEOPLASIAS LINFÓIDES.

Autor para la correspondencia: Antonio Martínez (ANTONMAR@clinic.ub.es).

INTRODUCCIÓN

La clasificación de las neoplasias linfoides se basa en tres pilares: la morfología, las alteraciones genéticas y el fenotipo. El fenotipado puede realizarse actualmente mediante citometría de flujo y técnicas de inmunohistoquímica sobre secciones de tejidos. La disponibilidad de un citómetro de flujo en muchos de los laboratorios de hematología hace esta primera opción especialmente interesante en nuestros días. El diagnóstico de la patología mieloide, por ejemplo, se realiza básicamente por medio de la citometría de flujo puesto que ofrece un resultado más rápido y amplio que el fenotipo del tejido. Tras convertir el tejido de la biopsia en una suspensión celular, se puede proceder a su estudio con los mismos protocolos con los que se analizan los síndromes linfoproliferativos en sangre periférica. En ocasiones, especialmente en biopsias pequeñas, puede optimizarse la rentabilidad del estudio realizando éste sobre el medio de transporte líquido de la biopsia (suero fisiológico, medio de cultivo o PBS) especialmente en linfomas muy agresivos como el linfoma de Burkitt. Esta técnica permite un diagnóstico rápido en pocas horas y es el complemento ideal del fenotipado de líquidos biológicos (derrames o líquido cefalorraquídeo o incluso citologías vítreas). No obstante, en la mayoría de los casos la citometría será una técnica complementaria a la inmunohistoquímica y nunca la debe suplir. El fenotipado sobre secciones de tejido tiene el poder adicional de preservar la inmunoarquitectura del tejido. La expresión de Bcl2 en un centro germinal tiene el valor diagnóstico de neoplasia del que carece la expresión en la zona del manto o la zona marginal. Además nos permite reconocer el tipo celular donde se observa la expresión, por ejemplo, la expresión de ciclina D1 en un macrófago tisular es fisiológica mientras que la expresión en una célula linfóide es indicativa de neoplasia. Lo mismo sucede con el compartimento subcelular donde se observa la expresión. La presencia de ALK en diferentes compartimentos celulares permite inferir el tipo de translocación asociada al linfoma anaplásico: nuclear y citoplasmática en la translocación t(2;5) NPM-ALK o la vesicular citoplasmática en Clatrina-ALK.

El fenotipado sobre secciones de tejido fijado en formol e incluido en parafina no es ya un desafío. Las modernas técnicas de recuperación antigénica se han estandarizado entorno a tres grandes grupos: las técnicas de calor con buffer de pH ácido, con pH alcalino y la digestión enzimática. En la actualidad existen plataformas totalmente automatizadas que permiten la realización de protocolos individualizados sobre cada sección de tejido para caracterizar la expresión de antígenos mediante inmunohistoquímica. Además, los sistemas actuales de amplificación de señal basados en polímeros, así como la presencia de diferentes enzimas y sustratos, han permitido la expansión de técnicas de marcaje múltiple inmunohistoquímico así como de combinación de protocolos de inmunohistoquímica e hibridación *in situ*.

En los siguientes apartados resumiremos las principales indicaciones de las técnicas de inmunohistoquímica en el diagnóstico de neoplasias linfoides.

ESTUDIO DE INMUNOGLOBULINAS COMO MARCADOR DE CLONALIDAD.

Una de las aplicaciones más útiles de las técnicas de inmunohistoquímica es la demostración de expresión de cadenas ligeras citoplásmicas como marcador de clonalidad. Todas las células linfoides B neoplásicas muestran, salvo pocas excepciones, expresión en superficie de un receptor. Este receptor es una inmunoglobulina convenientemente modificada para dirigirse a la membrana citoplásmica. De forma similar a nuestros anticuerpos del suero, la inmunoglobulina como receptor consta de dos cadenas pesadas (una de cualquiera de las siguientes; IgA, IgD, IgG, IgM e IgE) y dos cadenas ligeras (kappa o lambda) apropiadamente ensambladas. En condiciones fisiológicas el proceso de exclusión alélica selecciona en cada célula una única forma de cadena ligera, kappa o lambda. En la sangre de forma fisiológica, se encuentran un 60% de linfocitos B kappa y un 40% lambda. La detección en un tejido de una población exclusiva o dominante con expresión de únicamente de una de estas cadenas es altamente sugestivo de clonalidad y por ende de neoplasia. A esta situación la denominamos restricción de cadenas ligeras. La cantidad de expresión de

estas cadenas en un linfoma B de bajo grado es muy baja, y la técnica tiene que estar bien optimizada. La mayor parte de protocolos recomiendan una alta dilución de anticuerpos policlonales que reconozcan cada una de las cadenas tras una conveniente recuperación antigénica con tampones de bajo pH. Por otro lado, la expresión intensa de cadenas citoplasmáticas se observa en linfomas con diferenciación plasmocelular y transformación secretora, además de en neoplasias de células plasmáticas. Por otro lado, la expresión de cadenas ligeras es un argumento sólido para la identificación de la línea B de una neoplasia cuando otros marcadores son negativos (ver más adelante).

De otra forma, las cadenas pesadas son útiles en inmunohistoquímica de procesos linfoproliferativos B. La mayor parte de los linfomas son positivos de forma variable para IgM e IgD. No obstante, IgD es muy útil en la identificación de los mantos foliculares fisiológicos y por ende, en el reconocimiento del patrón infiltrativo de la neoplasia. Además, la positividad casi exclusiva de IgD es característica de los linfomas de zona marginal esplénicos. IgM identifica los plasmablastos del castlemán multicéntrico y es el subtipo de cadena pesada en el linfoma linfoplasmacítico cuando este se presenta como enfermedad de Waldenström. Otros subtipos son característicos de procesos específicos, como IgA, que se expresa en linfomas foliculares primarios duodenales o IgG que se expresa de forma característica en la tricoleucemia. La expresión de IgG es también útil en el diagnóstico de la forma primaria cutánea del linfoma de zona marginal, y la expresión de IgG4 de algunos linfomas de zona marginal de glándulas salivales además del síndrome sistémico esclerosante IgG4.

DIAGNOSTICO DE NEOPLASIAS LINFOIDES B AGRESIVAS

El diagnóstico de las neoplasias agresivas se basa fundamentalmente en criterios clinicopatológicos fácilmente reconocibles como el crecimiento destructivo del tejido donde se asienta la lesión, el elevado índice mitótico y/o apoptótico (como el "cielo estrellado" del linfoma de Burkitt), la presencia de células grandes y por supuesto la presencia de algunos parámetros clínicos de agresividad (LDH altas, masas grandes tumorales, presencia de anemia severa o la hipercaptación del PET). En esta situación el inmunofenotipo ayuda a definir la línea linfocito B versus T y otras (Hodgkin, mielocito o histiocito/dendrítico, ver más adelante). La utilización de un único marcador pan B y pan T en estos casos puede ser muy engañosa. Algunos linfomas agresivos B pueden ser negativos para CD20, como el linfoma plasmablasto, y otros, como el linfoma difuso de células grandes de tipo activado puede perder la expresión de CD79a. En algunos casos, un linfoma T periférico puede expresar CD20 y CD79a, pero raramente otros marcadores disponibles en la actualidad para identificar células B como PAX5, CD19 o CD22. Además, la expresión de cadenas ligeras puede usarse como un potente argumento a favor de la identificación de la estirpe B de la neoplasia. Por otro lado, en este grupo heterogéneo de neoplasias linfocíticas se han descrito numerosos marcadores pronósticos que permiten estratificar en grupos de riesgo a los pacientes. La diferenciación centrogerminal en un linfoma difuso de células grandes, se asocia a un mejor pronóstico, probablemente, porque en ese momento del desarrollo, su contrapartida no neoplásica es extraordinariamente sensible al microambiente que en todo momento controla su capacidad de proliferación. Por ello en los últimos años han aparecido un sinnúmero de marcadores que reflejan este momento de diferenciación, algunos de los cuales son altamente recomendables en la práctica clínica: CD10, Bcl6, IRF4, HGAL y LMO2 son algunos de los mejor caracterizados. La presencia de un fenotipo clásico de centrogerminal normal, positividad para marcadores de centrogerminal y negatividad para Bcl2 es muy útil en el diagnóstico diferencial entre la hiperplasia folicular, siempre negativa para Bcl2 y el linfoma folicular, usualmente positivo. No obstante, algunos tumores agresivos como el linfoma de Burkitt imitan este fenotipo.

DIAGNÓSTICO DE PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS DE CÉLULAS PEQUEÑAS

En el caso de los linfomas de células pequeñas B, algunas entidades tienen un inmunofenotipo muy característico que permite establecer el diagnóstico casi con total seguridad basado en el inmunofenotipo. Así, el linfoma folicular tiene un fenotipo característico con positividad para CD10, Bcl6 y Bcl2. El linfoma de células del manto expresa CD5 y ciclina D1, mientras que el linfoma linfocítico expresa CD5 y

CD23, pero no ciclina D1. El estudio de cadenas ligeras por inmunohistoquímica en los linfomas de bajo grado es de menos utilidad que en los de alto grado, por el menor nivel de expresión que hace que estas sean raramente detectables en secciones de tejido parafinado a excepción del linfoma de zona marginal o del linfoma linfoplasmacítico en las que de forma constante se observa una marcada diferenciación secretora en el tumor.

DIAGNOSTICO DE PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS DE LINFOCITOS T, T/NK Y NK

A diferencia de las neoplasias de linfocitos B, este grupo heterogéneo de tumores no dispone de marcadores inmunofenotípicos de clonalidad, apenas existen perfiles fenotípicos específicos de una única entidad tumoral y el diagnóstico de la entidad requiere un panel amplio de marcadores que no están al alcance de todas las unidades de diagnóstico.

La expresión de la kinasa ALK1 por inmunohistoquímica en un linfoma T es característica del linfoma T anaplásico (expresándose también en los linfomas B de célula grande ALK positivos y casos de carcinomas de pulmón y tumores miofibroblásticos inflamatorios). No obstante, a veces el fenotipo T no resulta evidente y requiere el estudio de reordenamientos del receptor antigénico de las células T para establecer la línea de la neoplasia.

CD2, el antiguo receptor implicado en las rosetas con eritrocitos de carnero, es un marcador de línea T poco usado en inmunohistoquímica que tiene unos resultados muy buenos en tejido fijado en formol y parafinado. El panel debe completarse con CD3, CD5, y CD7, éste último perdido en una buena proporción de linfomas T. La pérdida de CD5 y CD3, son sugestivas de derivación T/NK, NK. No obstante, el CD3 citoplasmático puede estar expresado en células NK.

Ki67

Ki-67 es un antígeno nuclear presente en todas las células proliferantes que se encuentran en la fase activa del ciclo celular (G1, S, G2 y mitosis) y ausente en G0. Es un marcador ampliamente utilizado en diversas subdisciplinas de la patología, en combinación con otros marcadores puede ayudar a decantar el diagnóstico a favor de benignidad o malignidad en algunos casos.

En el campo de la hematopatología tiene dos grandes utilidades. Por un lado permite ver cuál es el compartimento linfoide que está proliferando y cuál es la distribución de la proliferación; heterogénea u homogénea. Por ejemplo en el diagnóstico diferencial entre un linfoma de la zona marginal y un linfoma folicular. En el caso del primero esperamos una distribución parcheada (colonización) mientras que en el linfoma folicular de bajo grado esperamos una distribución más homogénea. En algunos casos, como en el linfoma de células del manto, es un marcador pronóstico que es capaz de reflejar una compleja firma molecular de proliferación. Por otro lado, dado que realza los nucléolos y tiñe toda la masa nuclear, puede ser de ayuda en casos en que la morfología es pobre, para establecer el diagnóstico de alto o bajo grado, como en el caso del linfoma folicular.

FACTORES DE TRANSCRIPCION

En los últimos años se ha ampliado el número de marcadores que podemos utilizar en la rutina diagnóstica. Estos además han pasado de corresponder únicamente a proteínas de membrana y se han desarrollado anticuerpos para algunos factores de transcripción, con tinción nuclear que nos permiten caracterizar las poblaciones linfoides en su proceso madurativo.

Pax-5

Es un factor de transcripción implicado en la diferenciación de la célula B, cuya expresión se extingue al entrar la célula en la fase terminal de diferenciación. Se utiliza para demostrar la línea B de las células y se expresa de forma débil en las células de Reed-Stemberg y Hodgkin. Fuera del sistema hematolinfoide se expresa en tumores neuroendocrinos principalmente pulmonares y muestra reacción cruzada con Pax-8.

IRF4/MUM-1

Multiple myeloma oncogene-1 (MUM-1) pertenece a la familia de IRF-4. Es un factor de transcripción involucrado en el desarrollo de células B, T y en la diferenciación plasmocelular. Se usa para identificar un

subtipo de linfomas difusos de célula grande de fenotipo activado, en combinación con CD10 y Bcl-6. Es positivo también en linfocitos T activados, en un subgrupo de células B del centro germinal y en las células de Reed-Stenberg del linfoma de Hodgkin.

Bcl-6

Es un factor de transcripción implicado en la diferenciación en la célula B. La supresión de su expresión es fundamental para la diferenciación plasmocelular. Se utiliza para identificar células centrogerminales así como sus contrapartidas neoplásicas. Se expresa por tanto en linfoma folicular, un subgrupo de linfomas difusos de célula grande y en linfoma de Burkitt.

DIANAS TERAPÉUTICAS

Desde hace más de 15 años, algunos de los antígenos que utilizamos en el diagnóstico de las neoplasias linfoides se han convertido en dianas terapéuticas de uso en el tratamiento de estos pacientes en combinación con quimioterapia. Muchos de estas dianas pueden estudiarse fácilmente por inmunohistoquímica en biopsias de rutina.

CD20

Se trata de una fosfoproteína no glicosilada de membrana, involucrada en la regulación de la célula B. Se usa como marcador de primera línea para definir la línea B. Su expresión se pierde en el proceso de maduración terminal de la célula B.

El desarrollo de un anticuerpo monoclonal (rituximab) dirigido contra el CD20 ha puesto de manifiesto la necesidad de la estandarización en la interpretación de la inmunohistoquímica y por otro lado la necesidad de utilizar marcadores de línea B alternativos en los casos de recaídas de pacientes tratados con inmunoterapia previa (rituximab).

CD30

La inmunoterapia con el anticuerpo conjugado anti-CD30 (brentuximab vedotina) se ha estudiado en pacientes con linfoma Hodgkin y no Hodgkin CD30+ refractarios o en recaída. Brentuximab vedotina está aprobado para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma Hodgkin CD30+ en recaída o refractario, después de trasplante autólogo o tras al menos dos líneas previas de tratamiento, y también para pacientes adultos con linfoma T anaplásico de células grandes sistémico en recaída o refractario.

CD 52

Es una glicoproteína presente en la superficie de linfocitos maduros, monocitos y células dendríticas. Alemtuzumab es un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD52. Esta terapia se ha usado en los últimos años en el tratamiento de la leucemia linfática crónica, entre otros.

MARCADORES PRONÓSTICOS

P53

La mutación de p53 es uno de los factores de mal pronóstico más robustos en pacientes con leucemia linfática crónica que reciben tratamiento estándar de primera línea, teniendo impacto tanto en la supervivencia libre de enfermedad como en supervivencia global. Es además una alteración genética secundaria común en progresión/transformación de linfomas de bajo grado a linfoma B de célula grande.

Zap-70

Esta proteína se expresa de forma fisiológica en linfocitos T y no en células B. Sin embargo estudios de expresión génica identificaron su expresión en leucemia linfática crónica y además su expresión correlaciona con el estado mutacional de las inmunoglobulinas, y por tanto tiene impacto pronóstico. Los casos positivos para Zap-70 tienden a ser no mutados y tener peor pronóstico. La expresión de Zap-70 puede valorarse por citometría de flujo y también por inmunohistoquímica en material parafinado.

MYC

La translocación de MYC con el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (y en algunos casos con la cadena ligera) es la alteración genética característica del linfoma de Burkitt. Sin embargo esta alteración citogenética se ha descrito en otros linfomas que no cumplen criterios de Burkitt y muestran cariotipos

más complejos; por ejemplo los llamados linfomas “double hit” u otros linfomas difusos de célula grande B. Los resultados publicados sugieren que la presencia de la translocación podría conferir mayor agresividad a estos tumores y podrían ser subsidiarios de regímenes terapéuticos alternativos. Actualmente existe un anticuerpo capaz de reconocer la expresión nuclear de MYC y que podría ser utilizado como cribado inicial para seleccionar los casos con alteraciones de MYC.

CONTROL DE CALIDAD

Todas las determinaciones analíticas del laboratorio, en especial las técnicas de inmunohistoquímica, deberían estar sometidas a un control de calidad interno y externo. El uso de controles internos es especialmente necesario para aquellos marcadores que no muestran control intrínseco en el tejido estudiado, como es ALK. Para el resto, el tejido estudiado suele contener control intrínseco, por ejemplo células del microambiente tumoral, que ayudan a discernir cuando un estudio es negativo o no valorable. No obstante, la participación en programas externos de garantía de la calidad, como el programa GCP de la SEAP, u otros como el UKNEQAS o NordiQC que permiten mantener nuestro nivel de sensibilidad y especificidad y detectar alteraciones de la normalidad antes que se produzca un error diagnóstico basado en evidencias erróneas.

Algunos programas de control de calidad como el GCP (www.seap.es/calidad), permiten acceso a los mejores protocolos actualizados para cada marcador y pueden ser útiles a la hora de tomar decisiones cuando ponemos a punto un nuevo marcador en el laboratorio.

Los autores desean agradecer a Olga Balagué y Blanca González su colaboración en este capítulo.

REFERENCIAS

1. www.e-immunohistochemistry.info
2. www.seap.es/calidad
3. www.nordiqc.org
4. www.proteinatlas.org
5. http://www.ihcworld.com/general_IHC.htm

1d. ESTUDIO CITOGÉNÉTICO-FISH

Autor para la correspondencia: Ana Batlle López (anabatllelopez@gmail.com).

1. INTRODUCCIÓN

La citogenética es la parte de la genética que estudia la apariencia microscópica de los cromosomas y sus anomalías en la enfermedad.

El conjunto de técnicas citogenéticas ha sido y continúa siendo clave para la correcta orientación terapéutica de pacientes onco-hematológicos. Esta tecnología ha permitido detectar que determinadas entidades clínicas están en realidad compuestas por múltiples enfermedades distintas no sólo desde el punto de vista molecular sino también clínico. Esto se debe, a que existen reordenamientos genéticos y alteraciones cromosómicas recurrentes asociados con frecuencia a subtipos tumorales específicos, ayudando a establecer el diagnóstico en pacientes en los que no ha podido ser establecido por otras metodologías. Por otro lado, las alteraciones citogenéticas contribuyen decisivamente en muchos casos a establecer el pronóstico de la enfermedad e incluso determinan el tipo de tratamiento a utilizar.

La citogenética junto con biología molecular, además, constituyen en estos momentos unos de los parámetros más importantes para la correcta monitorización de la mayoría de las enfermedades hematológicas.

2. CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

Definición: Estudio de las anomalías cromosómicas en las metafases de las células neoplásicas, obtenidas de distintos tipos de muestras biológicas (ganglios linfáticos, médula ósea, sangre periférica, líquido ascítico, líquido pleural, etc.). Para la obtención de metafases con frecuencia se requiere cultivar las células in vitro con/sin la adición de estimulantes específicos (tabla 1). Una vez extraída la muestra en tubo de heparina sódica o (en su defecto de litio) sin gel, debe remitirse rápidamente a temperatura ambiente al laboratorio de citogenética siempre que sea posible cultivarse el mismo día. Si no es posible deben mantenerse a 4°C durante 24-48 horas como máximo.

Orientación diagnóstica	Tipo de muestra	Mitógeno	Horas de cultivo
Neoplasias linfoides fenotipo B de bajo grado	SP*/MO*/T	TPA	72
Neoplasias linfoides de células maduras de fenotipo B de alto grado	SP*/MO*/T	PHA	Directo-24h
Linfoma Burkitt	SP*/MO*/T*	no	directo
Leucemia de células plasmáticas/mieloma múltiple	MO*/plasmocitoma	no	72
Neoplasias linfoides fenotipo T	SP*/MO*/T	PHA	72

Tabla 1. *Sólo se realizará el estudio citogenético si existe infiltración por células neoplásicas detectada por citometría de flujo/morfología. Dado que en ocasiones el resultado de la citometría-morfología puede no estar disponible el mismo día de la recepción de la muestra, se recomienda procesar la muestra, cultivarla y fijarla. El estudio de las metafases se puede posponer hasta conocer si existe infiltración en la muestra. T: tejido; las células se obtienen por disrupción mecánica. TPA: Phorbol 12-Myristate 13-Acetate; PHA: phyto-hemagglutinin. SP: sangre periférica, MO: médula ósea.

Técnica: Tras el cultivo se realiza el procesamiento de la muestra, que consiste en la detención de la mitosis en metafase mediante la adición de colcemid, la disrupción de las membranas celulares para lo cual se somete a las células a un choque hipotónico y posteriormente se procede a la fijación de las células con una solución de metanol-acético (Carnoy).

Los pellets de células en Carnoy pueden conservarse en frío (idealmente 20°) durante años. Estos pellets de Carnoy pueden utilizarse para realizar tanto el estudio de citogenética convencional como el de hibridación in situ fluorescente. Por ello, en caso de que se desconozca si la muestra presenta o no infiltración tumoral en el momento en que se recibe en el laboratorio, se recomienda parar el procesamiento en este punto. Una vez confirmada la existencia de población patológica se continuará con el procesamiento, que en el caso del estudio citogenético consiste en extensión de las células en portaobjetos, tinción generalmente con bandas G, captura y análisis de 20 metafases y elaboración de la fórmula siguiendo la nomenclatura internacional (Nomenclatura Citogenética. "An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2013) (ISCN, 2013)"

Indicaciones del estudio de citogenética convencional en patología linfoide: Se recomienda hacer el estudio de citogenética convencional en caso de que se detecte población patológica por otros métodos (citometría de flujo en el caso de los estudios de médula ósea o sangre periférica o suspensión de células de tejido y/o morfología-inmunohistoquímica en caso de cortes de tejido) en:

1. Siempre: Neoplasias de precursores linfoides para la correcta estratificación pronóstica-terapéutica

2. Recomendable en cualquier neoplasia de células linfoides maduras, dado que puede proporcionar información en la orientación diagnóstica y terapéutica (identificación de dianas moleculares). En pacientes con sospecha de linfoma de Burkitt la presencia de un cariotipo complejo debe hacernos dudar de éste diagnóstico.

Ventajas y limitaciones del estudio de citogenética convencional	
VENTAJAS	
<ul style="list-style-type: none"> • Da información de todo el genoma. • Proporciona información global del genoma • Coste medio-bajo 	
LIMITACIONES	
<ul style="list-style-type: none"> • Se necesitan metafases (células en división) • Se requiere buena calidad de las metafases para realizar un estudio citogenético concluyente. • No detecta cambios genéticos crípticos (<5Mb). • No permite la identificación de cromosomas marcadores y de las anomalías complejas. • Baja sensibilidad 	

3. HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH):

Definición: Técnica que permite detectar/estudiar secuencias específicas de ADN sobre células o núcleos en metafase o interfase, permitiendo identificar determinadas anomalías numéricas y/o estructurales en las muestras analizadas. Se basa en la hibridación del genoma celular con sondas (oligonucleótidos de DNA o RNA) marcadas con fluorocromos por complementariedad de las bases nitrogenadas.

Tipos de muestras: Se puede realizar en una gran variedad de muestras:

- Pellets de carnoy procesados para el estudio citogenético,
- Sangre periférica (tanto en tubo de EDTA como de heparina sódica/litio)
- Médula ósea (tanto en tubo de EDTA como de heparina sódica/litio)
- Líquidos biológicos (ascítico, pleural, LCR, etc que deben ser enviados en fresco lo antes posible al laboratorio, idealmente antes de que transcurran 6 horas desde su extracción)
- Frotis de sangre periférica (incluso previamente teñidos)
- Poblaciones separadas por métodos inmuno-magnéticos o de citometría (sorter). La separación de la población patológica permite incrementar la sensibilidad del estudio.
- Tejido:
 - **Tejido fijado en parafina o en muestras fijadas en formol;** los cortes deben de ser de 2-4µ. Se debe indicar si la muestra procede de bloque de parafina o si ha sido fijada con formol, así como el tiempo que ha transcurrido desde su fijación, ya que el pretratamiento de la muestra puede variar en función de esas variables. El tiempo requerido de digestión proteica también varía en función del grosor del tejido, siendo en ocasiones necesario repetir el proceso en caso de hibridación fallida. El tiempo de digestión puede controlarse haciendo una visualización al microscopio. En aquellos casos en los que la infiltración sea parcheada, es importante que se delimiten claramente las áreas tumorales. El estudio sobre tejido fijado tiene la ventaja de permitir estudiar las anomalías manteniendo la estructura tumoral y se puede realizar con muestras pequeñas. Como desventaja tiene que se produce solapamiento de núcleos, que puede producir falsas imágenes de fusión y la existencia de núcleos incompletos, dos aspectos que explican que la sensibilidad de la técnica sea menor en este tipo de muestras (tabla 2)
 - **Improntas o mediante la obtención de las células en una suspensión por disrupción mecánica** (este procesamiento permite realizar a partir de la misma muestra el estudio de cariotipo y de FISH,

siempre que exista celularidad suficiente). La realización del estudio en improntas o en células en suspensión tiene la ventaja de permitir el estudio sobre células completas sin superposición celular lo que aumenta notablemente la sensibilidad del estudio; tabla 2)

Técnica: la muestra de ADN (cromosomas metafásicos o núcleos en interfase) se desnaturaliza, proceso que separa las hebras complementarias de la estructura en doble hélice del ADN. A la muestra desnaturalizada se le añade la sonda de interés, marcada con un fluoróforo, que se asociará al ADN de la muestra en el sitio diana, proceso denominado hibridación. La señal emitida por la sonda se observa mediante un microscopio de fluorescencia, siendo posible clasificar el patrón de ADN en función de la presencia o ausencia de la señal.

Tipos de sondas:

- **Sonda centromérica (CEP)** Las sondas CEP reconocen secuencias cromosoma-específicas de ADN satélite altamente repetido, normalmente localizado en la región centromérica del cromosoma. Estas sondas permiten la identificación y enumeración de cromosomas en células en interfase y en metafase. Existen sondas centroméricas de todos los cromosomas.
- **Sondas específicas del locus:** Las sondas para la detección de deleciones son sondas específicas para el locus o región de deleción y suelen incluir una sonda control para la identificación exacta del cromosoma de interés. Ejemplo de estas sonda:
 - LSI TP53 SpectrumOrange/ CEP 17 SpectrumGreen: Esta sonda permite estudiar la deleción del p53, anomalía que potencialmente puede encontrarse en cualquier tumor y cuya presencia suele condicionar un pronóstico muy desfavorable.
- **Sondas Dual Color Dual fusión:** Las sondas dual color dual fusion emplean una sonda específica para cada uno de los loci involucrados en la translocación marcados con diferentes fluorocromos, de tal manera que la presencia de dicha translocación producirá una yuxtaposición de señales (roja y verde juntas o color amarillo) si existe reordenamiento. Debido a que en tejido existe gran superposición celular, las sondas dual color dual fusion presentan el inconveniente de poder dar lugar a falsos positivos por la colocalización de señales al azar en núcleos en interfase. Es por ello que en este tipo de muestras es preferible utilizar sondas break apart.

Ejemplo de esta sonda:

- LSI **t(8;14)(q24;q32)**[*IgH-MYC*]. La t(8;14)(q24;q32) que se detecta en aproximadamente el 80% de los linfomas de Burkitt, conlleva la yuxtaposición del oncogén *MYC* (8q24) al gen de *IgH* (14q32). El método de elección para detectar este reordenamiento es la FISH debido a la variabilidad en los puntos de rotura.
- LSI **t(11;18)(q21;q21)**[*API2-MALT*]. Este reordenamiento es el más frecuentemente detectado en el linfoma MALT, sobre todo en los de afectación pulmonar y gástrica. En el linfoma MALT gástrico, esta translocación se asocia con falta de respuesta al tratamiento con antibióticos. El método de elección para detectar este reordenamiento es la FISH por requerir poca muestra, poder realizarse directamente sobre biopsias endoscópicas incluidas en parafina y sobre todo debido a la variabilidad en los puntos de rotura.
- LSI **t(11;14)(q13;q32)** [*IGH-CICLINA D1*] es el marcador genético característico del linfoma del manto, aunque puede encontrarse también en mielomas. La técnica de elección para detectar este reordenamiento es la técnica de FISH, ya que por PCR sólo se detecta la mitad de los casos debido a la gran variabilidad de los puntos de ruptura.
- LSI **t(14;18)(q32;q21)** [*IGH-BCL2*] se encuentra en alrededor del 90% de los linfomas foliculares, en aproximadamente el 30% de los linfomas B difusos de células grandes y también se detecta en un porcentaje variable de linfomas de características intermedias entre LBDCG y LB. Los puntos de ruptura del gen *BCL2* se ubican generalmente en dos regiones clásicas, el MBR ("major breakpoint region") o, más raramente, MCR ("minor cluster region"). Sin embargo, en un 30-40% de los casos de linfoma folicular el punto de rotura se sitúa en otras regiones. Debido a la variabilidad en los puntos de ruptura el método de elección para el diagnóstico es la FISH.

- **Sondas break apart:** Las sondas "split", van dirigidas contra regiones que flanquean el punto de rotura de un mismo gen; por tanto, en núcleos normales las señales se yuxtaponen, mientras que aparecen señales separadas en núcleos que portan alguna translocación que afecte dicho gen. Como inconveniente, este tipo de sondas no permiten conocer que otro gen está involucrado en la traslocación. Las sondas "split" son muy útiles para el estudio de translocaciones en los que los genes diana presentan múltiples posibles "partners".

Ejemplos de estas sondas:

- *LSI MYC Dual Color Break Apart:* esta sonda permite evaluar la existencia de reordenamiento del gen MYC independientemente del "partner". MYC se encuentra reordenado en $\approx 100\%$ de los linfomas de Burkitt (aunque se han descrito falsos negativos de un 10% mediante técnica de FISH). También se encuentra reordenado en otros tipos de neoplasias linfoides B maduras, (linfomas de características intermedias entre linfoma de Burkitt y LBDCG, Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico, LBDCG, Linfoma plasmablastico, etc) generalmente implicando un pronóstico desfavorable.
- *LSI BCL6 Dual Color Break Apart:* El gen BCL6 se encuentra fundamentalmente reordenado en 30-40% de los LBDCG, en algunos linfomas de características intermedias entre LBDCG y Linfoma de Burkitt (generalmente asociado a reordenamientos del gen MYC y/o BCL2) y en algunos linfomas foliculares. Se han descrito una gran cantidad de "partners" diferentes, por lo que el método de elección para su detección es la FISH, utilizando esta sonda de tipo "split"
- *LSI ALK Break apart:* Este reordenamiento permite detectar reordenamientos del gen ALK, detectados en algunos tipos de linfomas anaplásicos, y en linfoma "ALK-positive large B cell Lymphoma". La identificación de esta anomalía es de especial interés debido a que existen en la actualidad inhibidores frente al ALK que están en fase de ensayo clínico.
- *LSI BCL2:* Reordenamientos que implican a esta región se observan en varios tipos de linfomas, incluyendo el linfoma folicular. El reordenamiento del BCL2 es un parámetro importante para el diagnóstico diferencial de linfomas no - Hodgkin. Esta sonda permite detectar reordenamiento del gen BCL2, independientemente del "partner implicado". Es la sonda de elección en tejido y en casos de linfomas de características intermedias entre LBDCG y LB, ya que en éstos el "partner" con frecuencia no es la IGH
- *Otros ejemplos: LSI IGH , LSI MALT, etc*

Tipo de sondas	Anomalía a estudio	Punto corte en células en suspensión	Punto corte en células en tejido
Sonda centromérica (CEP)	Monosomía	8-10%	25-50%
	Ganancias	1.5-2%	5-8%
Sondas específicas de locus con control interno	Deleción	6-10%	25-50% (ratio R/G<0.9)
Sondas dual color dual fusion	Reordenamiento	0,5% (400 núcleos); 0,005% (6.000 núcleos)	10-20%**
Sonda break apart	Reordenamiento	1% (400 núcleos); 0,01% (6.000 núcleos)	8-10%**

*Los puntos de corte de cada sonda deben establecerse en cada laboratorio utilizando 10-20 muestras de individuos sanos.** En linfomas el punto de corte es más alto debido a que la frecuencia de patrones aberrantes es muy elevado

Ventajas y limitaciones del estudio de FISH	
VENTAJAS	
<ul style="list-style-type: none"> • Método rápido • Requiere poca celularidad (idealmente un mínimo de 100-200 núcleos) • Se puede realizar a partir de una gran variedad de muestras diferentes. Al igual que la PCR, la FISH se puede realizar sobre tejido fijado • A diferencia del cariotipo puede realizarse en núcleos interfásicos • Permite identificar reordenamientos crípticos o de difícil visualización en el cariotipo • Técnica de elección para la búsqueda de reordenamientos de genes “promiscuos” o con puntos de ruptura variables (frecuente en neoplasias linfoides maduras) o con patrones aberrantes • A diferencia de la PCR permite detectar ganancias o amplificaciones, alteraciones frecuentemente detectadas en linfomas (estas anomalías se visualizan más fácilmente en improntas ganglionares o en células en suspensión) 	
LIMITACIONES	
<ul style="list-style-type: none"> • Requiere un microscopio de fluorescencia • Es un estudio dirigido • No da información de todo el genoma. • Coste intermedio • Sensibilidad intermedia (dependiendo del tipo de sonda y del tipo de muestra) 	

Indicaciones: Se recomienda hacer el estudio de FISH sólo en caso de que se detecte población patológica por otros métodos (citometría de flujo en el caso de los estudios de médula ósea o sangre periférica o suspensión de células de tejido y/o inmunohistoquímica en caso de cortes de tejido) en un porcentaje suficiente de células como para ser detectado mediante técnica de FISH (Tabla 2). Además, el panel de sondas a utilizar en cada caso dependerá del subtipo histológico (especificados en capítulos específicos).

Existen anomalías genéticas específicas concretas cuyo estudio se requiere para la adecuada orientación diagnóstica y/o pronóstica de los pacientes con neoplasias linfoides.

4. OTRAS TÉCNICAS DE ESTUDIO CITOGÉNÉTICO

4.1. Cariotipo multicolor: técnica que consiste en marcar el ADN de un cromosoma con uno o varios fluorocromos, de tal forma que el espectro de emisión de cada cromosoma sea único. Cada cromosoma por tanto aparecerá de un color específico. No permite detectar deleciones, inversiones ni duplicaciones intracromosómicas. Es útil para identificar que cromosomas estén implicados en los cromosomas marcadores o en las traslocaciones cromosómicas. Requiere metafases. En el momento actual esta técnica sólo se utiliza en investigación.

4.2. Hibridación genómica comparada: Método de análisis de cambios en el número de copias (ganancias/pérdidas) en el contenido de ADN de un tejido con respecto a un ADN de referencia. Para ello primero se realiza la hibridación del ADN del tejido tumoral, generalmente utilizando sondas marcadas con FITC y del ADN normal marcado con Rodamina o Texas Red. Ambos ADNs se mezclan en cantidades equimolares y se realiza la hibridación sobre los arrays. Posteriormente se evalúan las diferencias regionales de fluorescencia, identificando regiones anormales del genoma utilizando complejos sistemas informáticos. Existen diferentes tipos de arrays: los de BACs y los de oligonucleótidos. En la actualidad esta metodología se está incorporando a la rutina como complemento al cariotipo convencional. Es posible que en determinadas patologías esta técnica sustituya a la FISH.

RECOMENDACIONES

1. El estudio de FISH es recomendable en todos los casos, siempre que exista muestra suficiente para contribuir a la orientación diagnóstica, pronóstica y terapéutica de los pacientes con neoplasias linfoides. Para entidades específicas (p ej linfoma de Burkitt) es un dato necesario al diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
2. El estudio de FISH deberá orientarse en función del diagnóstico histopatológico. Grado C. Evidencia nivel IV
3. En muestras de tejido, la sonda break-apart es la sonda de elección para estudiar reordenamientos, ya que las sondas dual color dual fusion tienen una alta tasa de falsos positivos y elevada variabilidad interobservador. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Se recomienda hacer el estudio de citogenética convencional en todo caso de neoplasias de precursores linfoides para la correcta estratificación pronóstica-terapéutica. En los casos de neoplasias linfoides maduras es deseable pero no estrictamente necesario. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Rowley JD. Cytogenetic analysis in leukemia and lymphoma: an introduction. *Semin Hematol.* 2000 Oct;37(4):315-9. Review
2. Nussbaum R, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 7th edition. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2007.
3. Guía de recomendaciones para el diagnóstico genético y seguimiento de las neoplasias hematológicas, 2011. Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica (GCECGH) y el Grupo de Biología Molecular en Hematología (GBMH).
4. Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M (eds). ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: Karger; 2013.
5. Heim S, Mitelman F (eds). Cancer Cytogenetics. 3th edition. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2009.
6. Wolff DJ, Bagg A, Cooley LD, Dewald GW, Hirsch BA, Jacky PB, Rao KW, Rao PN. Guidance for fluorescence in situ hybridization testing in hematologic disorders. *J Mol Diagn.* 2007 Apr;9(2):134-43.
7. Schwaenen C1, Nessling M, Wessendorf S, Salvi T, Wrobel G, Radlwimmer B, Kestler HA, Haslinger C, Stilgenbauer S, Döhner H, Bentz M, Lichter P. Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: development of a clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Jan 27;101(4):1039-44
8. Swerdlow SH, Campos E, Harris LN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid Tissues. 2008. ARC ISBN-13 9789283224310
9. Sun T, Nordberg ML, Cotelingam JD, Veillon DM, Ryder J. Fluorescence in situ hybridization: method of choice for a definitive diagnosis of mantle cell lymphoma. *Am J Hematol* 2003; 74: 78-84
10. Martín-Subero JI, Gesk S, Harder L, Grote W, Siebert R. Interphase cytogenetics of hematological neoplasms under the perspective of the novel WHO classification. *Anticancer Res* 2003; 23: 1139-48
11. Sreekantaiah C. FISH panels for hematologic malignancies. *Cytogenet Genome Res.* 2007;118(2-4):284-96.

1e. ESTUDIO MOLECULAR.

Autor para la correspondencia: *Santiago Montes Moreno*. smontes@humv.es

1. DEFINICIÓN:

Se incluyen aquí técnicas de detección de alteraciones genéticas basadas en PCR que identifican mutaciones y/o reordenamientos génicos. Este es un campo en continua expansión en el ámbito experimental, especialmente a partir del desarrollo de técnicas de secuenciación masiva. Se incluye un detalle de las diferentes determinaciones y la evidencia disponible que apoya su uso en diagnóstico clínico.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Las técnicas de análisis molecular se basan en la detección de alteraciones en el ADN, esencialmente mutaciones puntuales y reordenamientos. La calidad del ADN extraído de una muestra es variable en función del procesamiento que haya sufrido. Así, el ADN obtenido de muestras en fresco o criopreservadas en medio OCT (incluyendo muestras de tejido, aspirado de médula ósea y sangre periférica) es superior al ADN obtenido de tejidos fijados en formol e incluidos en parafina. Esto obliga a realizar un control de calidad del ADN previo a cualquier determinación molecular que valore la integridad del mismo. El protocolo recomendado mide la amplificación de fragmentos de ADN de tamaño conocido (100-400 pb)(1, 2). Existen otros protocolos basados en la amplificación de genes concretos (por ejemplo p53).

3. TIPOS DE ESTUDIO MOLECULAR Y METODOLOGÍA DISPONIBLE.

Análisis de clonalidad linfoide B y T.

Estudio de reordenamientos de BCL2 y CCDN1 mediante PCR.

Estudio de la mutación L265P de MYD-88.

Estudio de la mutación V600E de BRAF.

Otras determinaciones moleculares de potencial utilidad clínica.

Análisis de clonalidad linfoide B y T.

En la mayoría de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo el estudio histopatológico y citomorfológico, complementado con inmunohistoquímica y citometría de flujo permite discriminar entre procesos benignos y malignos y, en caso de ser neoplásico, subclasificar el tipo de neoplasia según la OMS. No obstante en 5-10% de los casos los hallazgos histopatológicos no son convincentes o existe una discordancia clínico-patológica. El diagnóstico de neoplasia linfoide se puede apoyar en la identificación de clonalidad ya que >98% de las neoplasias linfoides contienen receptores de inmunoglobulina (Ig) y/o receptor de células T (TCR) reordenados de forma clonal (2, 3). Existen protocolos técnicos e interpretativos estandarizados a nivel europeo por el grupo Euroclonality/Biomed2 que son los que recomienda esta guía (1, 2). Estas recomendaciones estandarizan las condiciones técnicas del ensayo (sets de cebadores recomendados, condiciones de amplificación y control de calidad del ADN, electroforesis capilar y análisis de resultados), así como la interpretación de los mismos y su incorporación a un informe de diagnóstico molecular (1). Este informe de diagnóstico molecular debe ser integrado al informe de diagnóstico histopatológico como un estudio complementario y así tenido en cuenta en el contexto del caso en el diagnóstico definitivo. En este punto es esencial tener en cuenta las limitaciones de sensibilidad de la técnica por un lado y, por otro lado, que la presencia de poblaciones clonales no es suficiente para un diagnóstico de proceso linfoproliferativo.

Paneles de identificación de clonalidad linfoide:

En el caso de sospecha de linfoproliferativo de línea B:

Panel de primera línea: Clonalidad de IgHVH-JH (3 tubos, FR1, FR2, FR3), preferiblemente con estudio de IGK Vk-Jk e IGK Kde (2 tubos).

Panel de segunda línea (si no se detecta clonalidad pero aún se sospecha): IGH DH-JH e IGL (2 tubos).

En el caso de sospecha de linfoproliferativo de línea T:

Panel de primera línea: Clonalidad de TCRB V β -J β , TCRB D β -J β (3 tubos), preferiblemente con estudio de TCRG (2 tubos).

Panel de segunda línea (en caso de sospecha de linfoproliferativo T $\gamma\delta$): TCRD (1 tubo).

En el caso en que no se tenga una sospecha precisa acerca de la línea del linfoproliferativo se deberían aplicar los dos paneles de primera línea.

Estudio de reordenamientos de BCL2 y CCDN1 mediante PCR.

El gold-estándar para el análisis de reordenamientos de BCL2 y ciclinaD1 es el FISH de interfase utilizando sondas de tipo break-apart con sondas flanqueando el punto de rotura (véase capítulo correspondiente). Estas sondas de FISH se pueden utilizar en material fresco o congelado así como fijado en formol e incluido en parafina (4). Las técnicas basadas en PCR son, por lo general, de menor sensibilidad y pueden ser de utilidad para la monitorización de enfermedad mínima residual (2).

Estudio de la mutación de MYD88- L265P.

La presencia de la mutación L265P en el gen MYD-88 se ha descrito asociada a la enfermedad de Waldenström, gammapatía monoclonal de significado incierto de tipo IgM, un porcentaje de casos de linfoma B linfoplasmacítico y aislados casos de otros tipo de linfoma B de célula pequeña (SMZL, entre otros) (5-7). No se encuentra en casos de mieloma múltiple. Asimismo se encuentra en un porcentaje apreciable de casos de LBDCG NOS, especialmente de tipo ABC (8, 9) y la variante de Linfoma B difuso de célula grande de tipo piernas ("leg type")(10, 11). La detección de la mutación MYD88/L265P se ha demostrado de utilidad en el diagnóstico diferencial de procesos linfoproliferativos B de bajo grado en muestras de MO(12) de modo que su presencia apoya el diagnóstico de LPL en casos de linfoma B de bajo grado inclasificable.

El estudio de mutaciones de MYD88 se puede realizar con técnicas de Sanger convencional (sensibilidad ~ 10%) o PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 0,1%) (6).

Estudio de la mutación de BRAF-V600E.

La presencia de la mutación V600E en el gen BRAF es la marca genética de la leucemia de células peludas (LCP) encontrándose en virtualmente todos los casos de este tipo de linfoproliferativo y en muy aislados casos de los linfoproliferativos B de bajo grado que la simulan (linfoma esplénico y tricoleumia variante) (13-15). Asimismo se ha encontrado en histiocitosis de células de Langerhans (~60%), sarcoma histiocítico (~60%) y en la enfermedad de Erdheim-Chester (~60%)(16-19). Esta mutación es un potencial marcador de terapia dirigida en LCP y procesos histiocitarios (20, 21).

El estudio de la mutación de BRAFV600E se puede realizar con técnicas de Sanger convencional (sensibilidad ~ 10%), PCR cuantitativa convencional o alelo específica (sensibilidad ~ 0,1%)(22). Existe asimismo un anticuerpo específico de la mutación (clon VE1) que es válido en muestras FFIP, incluso tras procesos de decalcificación (17, 23).

Otras determinaciones moleculares de potencial utilidad clínica.

Otras determinaciones moleculares de potencial utilidad clínica son el estudio de perfiles de expresión génica y análisis de mutaciones específicas derivadas de los estudios de secuenciación masiva.

El análisis de perfiles de expresión génica ha permitido identificar las dos variantes moleculares del LBDCG (subtipos GCB y ABC). Esta subclasificación utiliza la información de la expresión de 375 genes para subclasificar los casos en las formas GCB y ABC (24). Existen, hasta la fecha, varios modelos pronósticos basados en la expresión de grupos seleccionados de estos genes que contienen 100(25), 27(26) o 15(27) genes y permiten subclasificar los casos en las formas GCB, ABC o tipo 3 (inclasificable, (~10% de los casos)). Los últimos kits de diagnóstico molecular (Lymph2Cx) utilizando la tecnología Nanostring permiten la subclasificación

molecular utilizando tejido FFIP (27). Actualmente estos productos se encuentran en fase experimental y su uso está restringido a estudios moleculares en ensayos clínicos.

También se ha descrito un perfil molecular del linfoma de Burkitt basado en análisis de la expresión génica(28, 29). El linfoma de Burkitt molecular se caracteriza por sobreexpresión de genes relacionados con MYC y cariotipos simples con translocaciones de C-MYC como única anomalía citogenética. La correlación del perfil molecular con la morfología es baja y actualmente no se aplica para diagnóstico rutinario.

Recientemente la disponibilidad de técnicas de secuenciación masiva está permitiendo identificar genes recurrentemente mutados en diferentes condiciones neoplásicas que podrían ser de utilidad en el diagnóstico y otros con potencial aplicación en la selección de terapia o pronósticos. Así, dentro del primer grupo estarían la mutación de BRAFV600E en tricoleucemia (13), y las mutaciones de MYD88/L265P en enfermedad de Waldstrom(7) y la mutación de ID3 en linfoma de Burkitt(30). Otras mutaciones de potencial interés en la clínica son las mutaciones de SF3B1 y NOTCH1 que en leucemia linfocítica crónica se asocian con una enfermedad rápidamente progresiva y menores supervivencias globales (31, 32). Asimismo, en otras patologías como LBDCG se encuentra que una acumulación de mutaciones en las vías de NFkB, JAK/STAT y BCR (8, 9, 33-35) que ya son la base de terapias dirigidas en el contexto de ensayos clínicos(36, 37).

4. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudio de clonalidad linfoide B y/o T en casos de discordancia entre los resultados de la morfología y el estudio inmunohistoquímico, especialmente si existe alta sospecha clínica de proceso linfoproliferativo. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Realizar los paneles de primera línea completos de estudio de clonalidad B y/o T en los casos en los que esté indicado. Grado B, nivel de evidencia III
3. Poner en contexto morfológico y fenotípico los resultados del estudio de clonalidad. No emitir un diagnóstico de proceso linfoproliferativo basado exclusivamente en el resultado molecular en ausencia de evidencia morfológica y fenotípica (especialmente en lesiones cutáneas o muestras de SP/MO). Grado B, nivel de evidencia III
4. La realización del análisis del estudio de clonalidad y su interpretación debe seguir las recomendaciones internacionales disponibles (1). Si no se dispone de la tecnología o experiencia suficiente derivar el caso a un centro de referencia. Grado C. Evidencia nivel IV
5. No realizar estudio de reordenamientos de BCL2 y CCND1 mediante PCR con fines diagnósticos. El gold-estándar para el análisis de reordenamientos de BCL2 y ciclinaD1 es el FISH de interfase. Grado B, nivel de evidencia III
6. Realizar estudio de mutaciones de MYD88-L265P en casos de sospecha morfológica y fenotípica de linfoma B linfoplasmacítico, especialmente en casos de linfoma B de bajo grado clasificable. Grado B, nivel de evidencia III
7. Realizar estudio de mutaciones de BRAF-V600E en casos de sospecha de leucemia de células peludas y procesos histiocitarios (histiocitosis de células de Langerhans, enfermedad de Erdheim Chester y Sarcoma histiocítico). Grado B, nivel de evidencia III

REFERENCIAS:

1. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. 2012 Oct;26(10):2159-71.
2. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2257-317.

3. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
4. Haralambieva E, Kleiverda K, Mason DY, Schuurin E, Kluin PM. Detection of three common translocation breakpoints in non-Hodgkin's lymphomas by fluorescence in situ hybridization on routine paraffin-embedded tissue sections. *J Pathol.* 2002 Oct;198(2):163-70.
5. Jimenez C, Sebastian E, Chillon MC, Giraldo P, Mariano Hernandez J, Escalante F, et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenstrom's macroglobulinemia. *Leukemia.* 2013 Aug;27(8):1722-8.
6. Xu L, Hunter ZR, Yang G, Zhou Y, Cao Y, Liu X, et al. MYD88 L265P in Waldenstrom macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction. *Blood.* 2013 Mar 14;121(11):2051-8.
7. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia. *N Engl J Med.* 2012 Aug 30;367(9):826-33.
8. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, Auclair D, Chapuy B, Sougnez C, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Mar;109(10):3879-84.
9. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, Ma J, Rossi D, Chiarenza A, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. *Nat Genet.* 2011 Sep;43(9):830-7.
10. Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Andrique L, Cappellen D, Vergier B, Martinez F, et al. Multiple genetic alterations in primary cutaneous large B-cell lymphoma, leg type support a common lymphomagenesis with activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol.* 2014 Mar;27(3):402-11.
11. Pham-Ledard A, Cappellen D, Martinez F, Vergier B, Beylot-Barry M, Merlio JP. MYD88 somatic mutation is a genetic feature of primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type. *J Invest Dermatol.* 2012 Aug;132(8):2118-20.
12. Ondrejka SL, Lin JJ, Warden DW, Durkin L, Cook JR, Hsi ED. MYD88 L265P somatic mutation: its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol.* 2013 Sep;140(3):387-94.
13. Tacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* 2011 Jun 16;364(24):2305-15.
14. Trifa AP, Popp RA, Cucuianu A, Coadă CA, Urian LG, Militaru MS, et al. Absence of BRAF V600E mutation in a cohort of 402 patients with various chronic and acute myeloid neoplasms. *Leuk Lymphoma.* 2012 Dec;53(12):2496-7.
15. Ping N, Wang Q, Wang Q, Dong S, Wu L, Xue Y, et al. Absence of BRAF V600E mutation in hematologic malignancies excluding hairy-cell leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2012 Dec;53(12):2498-9.

16. Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, von Deimling A, Helias-Rodzewicz Z, Hervier B, et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. *Blood*. 2012 Sep 27;120(13):2700-3.
17. Mehes G, Irsai G, Bedekovics J, Beke L, Fazakas F, Rozsa T, et al. Activating BRAF V600E Mutation in Aggressive Pediatric Langerhans Cell Histiocytosis: Demonstration by Allele-specific PCR/Direct Sequencing and Immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol*. 2014 Aug 12.
18. Go H, Jeon YK, Huh J, Choi SJ, Choi YD, Cha HJ, et al. Frequent detection of BRAF(V) (600E) mutations in histiocytic and dendritic cell neoplasms. *Histopathology*. 2014 Aug;65(2):261-72.
19. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, MacConaill LE, Brandner B, Calicchio ML, et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood*. 2010 Sep 16;116(11):1919-23.
20. Dietrich S, Glimm H, Andrulis M, von Kalle C, Ho AD, Zenz T. BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2012 May 24;366(21):2038-40.
21. Haroche J, Cohen-Aubart F, Emile JF, Arnaud L, Maksud P, Charlotte F, et al. Dramatic efficacy of vemurafenib in both multisystemic and refractory Erdheim-Chester disease and Langerhans cell histiocytosis harboring the BRAF V600E mutation. *Blood*. 2013 Feb 28;121(9):1495-500.
22. Tiacchi E, Schiavoni G, Forconi F, Santi A, Trentin L, Ambrosetti A, et al. Simple genetic diagnosis of hairy cell leukemia by sensitive detection of the BRAF-V600E mutation. *Blood*. 2012 Jan 5;119(1):192-5.
23. Andrulis M, Penzel R, Weichert W, von Deimling A, Capper D. Application of a BRAF V600E mutation-specific antibody for the diagnosis of hairy cell leukemia. *Am J Surg Pathol*. 2012 Dec;36(12):1796-800.
24. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000 Feb;403(6769):503-11.
25. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002 Jun 20;346(25):1937-47.
26. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Aug;100(17):9991-6.
27. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih CJ, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood*. 2014 Feb 20;123(8):1214-7.
28. Dave SS, Fu K, Wright GW, Lam LT, Kluin P, Boerma EJ, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med*. 2006 Jun;354(23):2431-42.
29. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med*. 2006 Jun;354(23):2419-30.

30. Love C, Sun Z, Jima D, Li G, Zhang J, Miles R, et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. *Nat Genet.* 2012 Dec;44(12):1321-5.
31. Quesada V, Conde L, Villamor N, Ordóñez GR, Jares P, Bassaganyas L, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet.* 2012 Jan;44(1):47-52.
32. Villamor N, Conde L, Martínez-Trillos A, Cazorla M, Navarro A, Beà S, et al. NOTCH1 mutations identify a genetic subgroup of chronic lymphocytic leukemia patients with high risk of transformation and poor outcome. *Leukemia.* 2013 Apr;27(5):1100-6.
33. Zhang J, Grubor V, Love CL, Banerjee A, Richards KL, Mieczkowski PA, et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Jan;110(4):1398-403.
34. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. SnapShot: diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell.* 2014 Jan 13;25(1):132-e1.
35. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, Goya R, Mungall KL, Corbett RD, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature.* 2011 Aug;476(7360):298-303.
36. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, Tolar P, Young RM, Romesser PB, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature.* 2010 Jan;463(7277):88-92.
37. Wyndham H, Wilson M, et al. The Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitor, Ibrutinib (PCI-32765), Has Preferential Activity in the ABC Subtype of Relapsed/Refractory De Novo Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Interim Results of a Multicenter, Open-Label, Phase 2 Study. *Blood.* 54th ASH Annual Meeting Abstracts, 2012.

1f. INFORME DIAGNÓSTICO

Autor para la correspondencia: *Santiago Montes Moreno* (smontes@humv.es)

El informe de diagnóstico anatomopatológico debe resumir e integrar todos los hallazgos obtenidos de la muestra de forma estructurada. Existen referencias de otras sociedades científicas que utilizan protocolos de informe con un formato predefinido o checklist¹. En esta guía se propone sucintamente la estructura y el contenido de un informe de diagnóstico histopatológico de patología hematolinfóide.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA: Se debe especificar el tipo de tejido recibido (ganglio linfático, médula ósea, bazo, otro tejido extraganglionar) y el formato de la muestra (biopsia escisional, incisional, de tipo punción-biopsia con aguja gruesa, PAAF, biopsia y aspirado de MO, pieza de esplenectomía, otros). Se debe consignar si la muestra se recibe en fresco o ya sumergida en algún medio de fijación. Asimismo deben constar las dimensiones máximas de la muestra en caso de biopsia y el tipo de procesamiento (fijación en formol e inclusión en parafina, otros). Si se destina muestra para estudios complementarios (CMF, cariotipo, FISH, molecular) o se incluye parte de la muestra excedente en Biobanco se debe hacer constar en este apartado.

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA: Incluye un primer apartado de descripción del patrón histopatológico y de las características citomorfológicas del tejido. En un segundo apartado se deben hacer constar los resultados del estudio inmunohistoquímico.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO: Incluye el término diagnóstico de acuerdo con la actual clasificación de la OMS de neoplasias del sistema hematopoyético².

NOTAS: En este apartado es deseable incluir comentarios relativos a la interpretación de los estudios complementarios en el contexto del diagnóstico histopatológico del caso. Esto es especialmente relevante en lo relativo a los resultados de molecular (clonalidad linfoide, mutaciones puntuales) y de FISH/citogenética, habitualmente de relevancia diagnóstica y pronóstica.

Asimismo es el espacio conveniente para incluir comentarios acerca del diagnóstico histopatológico en el contexto de los datos clínicos y otros datos de laboratorio proporcionados por el clínico solicitante u obtenidos de la historia clínica.

ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS: En este apartado se debe incluir el resultado detallado de los diferentes estudios complementarios al diagnóstico realizados sobre el material recibido. Esto incluye resultados de molecular, FISH/citogenética o CMF. En el caso de que estos estudios se realicen en un laboratorio distinto al que genera el informe de anatomía patológica se recomienda incluir la información contenida en dicho informe y hacer referencia al laboratorio y personal responsable del análisis. En todo caso los resultados de los estudios complementarios deben integrarse en el cuerpo principal del informe anatomopatológico y si es preciso realizar algún comentario o interpretación sobre los mismos detallarse en el apartado de notas, junto al diagnóstico principal.

REFERENCIAS

1. Hussong JW, Arber DA, Bradley KT, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with non-Hodgkin lymphoma/lymphoid neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(6):e40-47.
2. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.*; 2008.

2. LINFOMAS B NO HODGKIN.

2a. LINFOMAS B INDOLENTES.

LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA/ LINFOMA LINFOCÍTICO.

Autor para la correspondencia: José Luis Villar (jlwillar@us.es)

DEFINICIÓN, EPIDEMIOLOGÍA Y RASGOS CLÍNICOS

Neoplasia linfoide que se caracteriza por la proliferación clonal y gradual acumulación de linfocitos B pequeños CD23 y CD5 positivos en la sangre, médula ósea, bazo y ganglios linfáticos.

Dos formas de presentación clínica:

- * **Leucemia linfocítica (linfática) crónica (LLC)**, que se define por la presencia de linfocitosis en sangre periférica de $\geq 5 \times 10^9/L$ linfocitos B monoclonales con morfología y fenotipo de LLC, durante al menos tres meses.
- * **Linfoma linfocítico (LL)**, que exige para su diagnóstico la afectación de territorios linfoides (generalmente ganglios linfáticos) por linfocitos B monoclonales con las mismas características morfológicas e inmunofenotípicas de la LLC, unos valores de linfocitos en sangre $< 5 \times 10^9/L$ y la ausencia de citopenias debidas a la infiltración de la médula ósea.

Si la cifra de linfocitos monoclonales en sangre es $< 5 \times 10^9/L$ y no hay afectación de territorios linfoides, citopenias ni síntomas relacionados con la enfermedad el diagnóstico debe ser *linfocitosis B monoclonal con fenotipo de LLC*.

En occidente es la leucemia más común de los adultos (sobre todo en la 7ª década de la vida); ligeramente más frecuente en hombres.. La LLC/LL tiene una elevada predisposición genética. Hay una predisposición familiar a la enfermedad, con un riesgo estimado de 2-7 veces superior en familiares de primer grado de pacientes con LLC/LL.

La LLC/LL es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista clínico, con presentación, curso clínico y evolución muy variables (1, 2).

Presentación clínica

- Leucemia ($\geq 5 \times 10^9/L$ de linfocitos monoclonales en sangre), generalmente asintomática, pero que puede cursar con astenia (a veces sin relación con el grado de actividad), síndrome anémico (por infiltración medular, secuestro esplénico o anemia hemolítica autoinmune) e infecciones.
- Es frecuente la infiltración temprana de los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado, y con ella la aparición de hepatoesplenomegalia y adenopatías.
- Es menos frecuente la afectación de otros territorios extramedulares. De éstos, los que se afectan con mayor frecuencia son: el sistema nervioso central (SNC), el tubo digestivo y la piel (*Cramer, et al 2014*).
- En un reducido porcentaje de casos hay un pequeño pico monoclonal sérico de inmunoglobulinas.
- Se utiliza el término linfoma linfocítico (LL) para los casos con afectación ganglionar sin linfocitosis suficiente para el diagnóstico de LLC ($< 5 \times 10^9/L$).

Curso clínico, respuesta al tratamiento y transformación

- La mayoría de casos de LL desarrollan afectación de la médula ósea y la sangre en el curso de la enfermedad.
- El tratamiento sólo está indicado cuando existen síntomas o signos relacionados con enfermedad activa (síntomas B, conglomerados adenopáticos de gran tamaño o adenopatías de crecimiento progresivo, esplenomegalia progresiva, citopenias progresivas o fenómenos autoinmunes refractarios al tratamiento inmunosupresor)

- Según su respuesta al tratamiento la LLC debe encuadrarse en alguna de las siguientes categorías: en remisión completa, en remisión parcial, enfermedad estable, enfermedad en progresión, enfermedad refractaria y enfermedad mínima residual.
- El 2-8% de los pacientes con LLC/LL sufre la transformación de su enfermedad: bien desarrollan un linfoma difuso de células grandes B (LBDCG), (denominado síndrome de Richter), o más raramente un linfoma de Hodgkin (<1%)(3)

Estadaje de la enfermedad

- Se emplean dos sistemas de Binet o Rai que toma en consideración el número de territorios linfoides afectados (considerando 5 posibles áreas: cervical, axilar, inguino-femoral, bazo e hígado), los valores de hemoglobina (Hb) y la cifra de plaquetas.
- Binet: Se definen tres estadios:
 - Estadio A: Hb ≥ 10 g/dL, plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ y no más de dos territorios afectados.
 - Estadio B: Hb ≥ 10 g/dL, plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ y tres o más territorios afectados.
 - Estadio C: Hb < 10 g/dL y/o plaquetas $< 100 \times 10^9/L$, independientemente del número de territorios afectados.
- Rai modificado: se definen 3 estadios:
 - Riesgo bajo: Linfocitosis SP y MO sin otras alteraciones (antes Rai 0)
 - Riesgo intermedio linfocitosis y adenopatías, esplenomegalia y/o hepatomegalia (antes Rai I y Rai II)
 - Riesgo alto: Linfocitosis y anemia debida a la enfermedad (Hb < 11 g/dL, antes Rai III) o trombocitopenia (plaquetas $< 100 \times 10^9/L$, antes Rai IV)

Estos sistemas definen distintos grados de riesgo: bajo (Binet A, Rai 0), intermedio (Binet B, Rai I/II) y alto (Binet C; Rai III-IV). Ambos sistemas tienen limitaciones, siendo la más importante su incapacidad para predecir que pacientes en estadios iniciales tienen mayor riesgo de progresar.

En la actualidad, resulta de gran valor la diferenciación entre LLC con mutaciones o sin mutaciones en la región VH del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (*IGHV*, véase más adelante).

2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

- En la mayoría de casos, el diagnóstico de LLC se realiza en sangre periférica en base a la cifra de leucocitos, la fórmula leucocitaria, la morfología linfocitaria observada en el frotis y el inmunofenotipo por citometría.
- La biopsia de médula ósea no es necesaria para establecer el diagnóstico y su valor pronóstico es controvertido en el momento actual. Se recomienda hacer biopsia de médula ósea en casos de:
 - Antes de iniciar un tratamiento para posteriormente ayudar en la evaluación de la respuesta al mismo.
 - Citopenias de naturaleza no aclarada, no justificadas por infiltración medular, hemólisis o causa carencial.
- La biopsia ganglionar tampoco es habitualmente necesaria, salvo en:
 - los casos que presenten dificultades diagnósticas, en especial los de presentación ganglionar, sin compromiso de SP y cuando se plantea la posibilidad de linfoma del manto
 - en aquellos casos en los que se sospeche una transformación a un linfoma agresivo (debe sospecharse si aparece deterioro del estado clínico, síntomas B, aumento de la LDH, rápido aumento del tamaño de los ganglios, aparición de lesiones extraganglionares, etc).

3. RASGOS HISTOPATOLÓGICOS Y HEMATOLÓGICOS

En el ganglio linfático

- Borramiento de la arquitectura debido a un patrón de crecimiento difuso, con áreas más claras que le confieren un aspecto vagamente multinodular (pseudofolículos). En ocasiones hay sólo afectación parcial del ganglio (patrones interfolicular y/o perifolicular).

- Linfocitos pequeños, sólo ligeramente mayores que los normales, monomorfos, con el núcleo redondo o algo irregular, la cromatina compacta y un citoplasma escaso. A veces tienen diferenciación plasmocitoide.
- Las áreas claras se denominan *centros de proliferación*, son redondeadas y están constituidas por una población celular heterogénea: linfocitos pequeños, prolinfocitos (algo mayores, con nucléolo) y paraimunoblastos (de mayor tamaño, cromatina dispersa, nucléolo eosinófilo y con un ribete de citoplasma basófilo).
- El tamaño, número y visibilidad de los centros de proliferación varía de un caso a otro.
- El índice de mitosis es muy bajo.

En el bazo

- Afectación predominante de la pulpa blanca, pero también de la roja.
- Los centros de proliferación son menos prominentes que en el ganglio.
- Linfocitos pequeños, con el núcleo redondo, la cromatina compacta y el citoplasma escaso.

En la médula ósea

- Cuatro patrones de infiltración: intersticial, nodular (nódulos de cualquier tamaño, en general sin centro claro, y de localización típicamente centromedular), mixta (intersticial y nodular) y difusa. En general, los tres primeros son los habituales en las fases iniciales de la enfermedad, y el último en las fases avanzadas.
- La infiltración paratrabecular no es propia de la LLC.
- En estudios antiguos los patrones histológicos presentaban valor pronóstico y predictivo de progresión, aunque esto no se ha confirmado con los esquemas terapéuticos actuales; hoy en día el pronóstico viene dado fundamentalmente por las alteraciones genéticas.
- Los centros de proliferación son menos prominentes que en el ganglio.
- Linfocitos pequeños, con el núcleo redondo, la cromatina compacta y el citoplasma escaso.

En la sangre periférica

- El examen del frotis de sangre periférica permite orientar el diagnóstico en la mayoría de los casos.
- Dos variantes:
 - Forma típica o clásica
 - Forma atípica, que incluye la variante mixta, y la variante prolinfocítica (distinta de la leucemia prolinfocítica).

4. CITOMETRÍA DE FLUJO Y PANEL DE INMUNOHISTOQUÍMICA

Panel de primera línea CMF: En la citometría de flujo la LLC típicamente expresa CD19, CD20 (débil), CD5, CD23, CD200 y CD43 y es débil/negativa para slg y FMC7

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, CD5, CD23, BCL2, ciclina D1

Panel de segunda línea IHQ: LEF1, IgD, CD43.

- En los cortes histológicos, las técnicas inmunohistoquímicas demuestran expresión de marcadores pan-B (CD20 débil), clgD, CD5, CD23, CD43, LEF1 y BCL2.
- Las células de la LLC/LL no expresan habitualmente CD3, CD10, BCL6, ni ciclina D1.
- Algunos casos de LLC/LL tienen un inmunofenotipo aberrante: CD5- y/o CD43-, CD23-, FMC7+. Si la médula ósea se ha fijado en B5 hay falsos negativos con CD5.
- La expresión de ZAP70 ($\geq 20\%$) y CD38 ($\geq 30\%$) ocurre habitualmente en los casos con *IGHV* no mutado y se asocia a un pronóstico adverso.

5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Diagnóstico diferencial

- Linfoma del manto

- Linfoma folicular
- Leucemia prolinfocítica B
- Linfoma de la zona marginal
- Linfoma de Hodgkin tipo predominio linfocítico

Causas de errores diagnósticos

- Linfocitos atípicos en sangre y/o el aspirado de médula ósea: núcleos hendidos o aspecto linfoplasmacítico.
- Porcentaje de prolinfocitos en la sangre del 10-50%,
- En ganglio linfático, LL con núcleos atípicos y centros de proliferación poco aparentes.
- Afectación inusual de órganos extramedulares como el SNC, la piel o el tubo digestivo.
- Inmunofenotipo aberrante, con ausencia de expresión de CD5 o de CD23, y más raramente de ambos.
- LLC con la t (14; 18) (q32; q21) (poco frecuente), propia del linfoma folicular.

6. CITOGENÉTICA, MUTACIONES SOMÁTICAS Y EPIGENÉTICA

La LLC/LL es una enfermedad también muy heterogénea y compleja desde el punto de vista genético(4-6).

Hipermutaciones somáticas en los genes que codifican la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (*IGHV*)

Según la homología del gen VH del reordenamiento monoclonal de las células leucémicas con la línea germinal se distingue entre LLC con *IGHV* mutado (<98% homología) y LLC con *IGHV* no mutado (≥98% homología). El estado mutacional de *IGHV* permanece invariable a lo largo de la enfermedad.

- Los casos con *IGHV* no mutado tienen peor pronóstico: a) requerimiento terapéutico precoz, b) mayor riesgo de recurrencia tras el trasplante de médula ósea; c) mayor riesgo de transformación (síndrome de Richter) ocurre casi exclusivamente en este subgrupo; d) mayor tendencia a adquirir alteraciones citogenéticas desfavorables y e) menor supervivencia.
- El estado mutacional se correlaciona con la expresión de ZAP70: los casos con *IGHV* no mutado son mayoritariamente ZAP70 positivos, y suelen ser negativos los casos con *IGHV* mutado.
- Alteraciones citogenéticas
- Las alteraciones citogenéticas (cromosómicas) son uno de los principales factores pronósticos independientes, razón por la cual se recomienda su estudio en todos los casos antes de iniciar el tratamiento.
- El estudio de las alteraciones citogenéticas se debe realizar con las técnicas citogenéticas clásicas (que han mejorado sus resultados con los nuevos métodos de cultivo celular, recomendándose el estudio de cariotipo en muestras estimuladas con TPA 72h), y sobre todo mediante FISH (con un panel múltiple frente a las regiones más frecuentemente alteradas). Alternativamente se pueden usar *arrays* de hibridación genómica comparada o SNPs.
- En los casos de LLC se ha identificado una amplia variedad de alteraciones genéticas. Las más frecuentes son:
 - *del(13q14)*: buen pronóstico
 - *trisomía 12* y *del(6q21)*: pronóstico intermedio
 - *del(17p13)* y *del(11q22-23)*: mal pronóstico
 - Mutaciones en *TP53*, *ATM*, *NOTCH1*, *BIRC3* y *SF3B1*: pronóstico adverso
 - Mutaciones de *MYD88*: presentes en casos con *IgHV* mutado (~3% del total).

Debe señalarse que algunos grupos postulan que de forma rutinaria los únicos marcadores que deben estudiarse son la *del(17p)*, +/- *del(11q)* antes de iniciar tratamiento y que el estudio del resto de los marcadores biológicos sólo debería hacerse en el contexto de ensayos clínicos(8). Esta postura sin embargo no es

la más extendida y en general se recomienda el estudio de la trisomía 12, del(17p), del (11q) y del(13q14) para una adecuada orientación pronóstica y terapéutica.

7. PRONÓSTICO Y FACTORES PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN

- Entre los factores con valor pronóstico y predictivos del curso clínico, la respuesta al tratamiento y la supervivencia en los casos de LLC se consideran los siguientes:
 - Estadio clínico de la enfermedad.
 - Marcadores séricos (LDH, β 2-microglobulina, timidina quinasa, entre otros).
 - Tiempo de duplicación de las cifras de linfocitos en la sangre periférica (mayor o menor de 12 meses).
 - Estado mutacional de *IGHV*
 - Expresión de ZAP70 en $\geq 20\%$ y/o de CD38 en $\geq 30\%$ de las células tumorales.
 - Tipo de alteración citogenética:
 - *del(13q14)*: buen pronóstico
 - *trisomía 12* y *del(6q21)*: pronóstico intermedio
 - *del(17p13)* y *del(11q22-23)*: mal pronóstico
 - Mutaciones en *TP53*, *ATM*, *NOTCH1* y *SF3B1*

RECOMENDACIONES

1. Para establecer el diagnóstico de la LLC/LL es esencial realizar un estudio morfológico e inmunofenotípico mediante citometría de flujo y/o IHQ, generalmente de sangre periférica en los casos de LLC y ocasionalmente en el ganglio linfático en los casos de LL. Grado C. Evidencia nivel IV
2. El patólogo puede contribuir a su diagnóstico en casos atípicos y aportar información valiosa desde el punto de vista pronóstico identificando el patrón de infiltración de la médula ósea o valorando la respuesta al tratamiento. Grado C. Evidencia nivel IV
3. El diagnóstico de Linfoma Linfocítico, generalmente se establece en una biopsia ganglionar, y se debe realizar el diagnóstico diferencial con otros linfomas B de células pequeñas. La eventual transformación en un LBDCG o en un linfoma B Hodgkin-like también es un diagnóstico basado en los hallazgos histopatológicos. Grado C. Evidencia nivel IV
4. El diagnóstico de LLC/LL requiere la colaboración entre el hematólogo y el patólogo. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Las alteraciones citogenéticas son frecuentes en la LLC, además de un factor pronóstico independiente, razón por la cual se recomienda su estudio mediante FISH y/o cariotipo en todos los casos antes de iniciar el tratamiento. Grado B, nivel de evidencia III
6. También se recomienda el estudio del estado de mutación de los genes que codifican la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (*IGHV*) y de las mutaciones del p53. Grado B, nivel de evidencia III

* Los autores desean agradecer a la Dra Neus Villamor la revisión crítica de este capítulo.

REFERENCIAS

1. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2013 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol.* 2013 Sep;88(9):803-16.
2. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood.* 2008 Jun;111(12):5446-56.

3. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
4. Rodriguez-Vicente AE, Diaz MG, Hernandez-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogenous disease. *Cancer genetics*. 2013 Mar;206(3):49-62.
5. Martin-Subero JI, Lopez-Otin C, Campo E. Genetic and epigenetic basis of chronic lymphocytic leukemia. *Current opinion in hematology*. 2013 Jul;20(4):362-8.
6. Foa R, Del Giudice I, Guarini A, Rossi D, Gaidano G. Clinical implications of the molecular genetics of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2013 May;98(5):675-85.
7. Tang G, Banks HE, Sargent RL, Medeiros LJ, Abruzzo LV. Chronic lymphocytic leukemia with t(14;18)(q32;q21). *Hum Pathol*. 2013 Apr;44(4):598-605.
8. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*. 2012.
9. Villamor N, Conde L, Martínez-Trillos A, Cazorla M, Navarro A, Beà S, et al. NOTCH1 mutations identify a genetic subgroup of chronic lymphocytic leukemia patients with high risk of transformation and poor outcome. *Leukemia*. 2013 Apr;27(5):1100-6.
10. Villamor N, Lopez-Guillermo A, Lopez-Otin C, Campo E. Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Hematol*. 2013 Oct;50(4):286-95.

LEUCEMIA CELULAS B-PROLINFOCITICA

Autor para la correspondencia: Manuela Mollejo (mmollejov@sescam.jccm.es).

1. DEFINICIÓN:

Es un proceso neoplásico de células B con morfología de prolinfocitos que infiltra médula ósea, sangre periférica y bazo. La cifra de prolinfocitos en sangre periférica debe ser mayor del 55%. Hay que hacer el diagnóstico diferencial con casos de progresión de LLC-B y linfomas del manto con expresión periférica. Es una entidad muy rara, aproximadamente 1% de leucemias linfocíticas. Afecta a pacientes de edad avanzada y tienen un curso clínico más agresivo que LLC.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico se establecerá en la mayoría de las ocasiones en sangre periférica y/o médula ósea. Las descripciones de la LPL en otras localizaciones son excepcionales y la mayoría corresponden a linfomas del manto blásticos

Sangre periférica: La mayoría de las células circulantes son prolinfocitos, células de mediano tamaño con nucléolo prominente central y citoplasma amplio.

Biopsia-cilindro y aspirado de médula ósea: El aspirado muestra abundantes prolinfocitos. La biopsia muestra una infiltración intersticial y/o infiltración difusa y nodular peritrabecular por linfocitos de mediano tamaño con núcleos con nucléolos prominentes.

Bazo: El bazo muestra infiltración de pulpa blanca y pulpa roja por una población de linfocitos de mediano tamaño. Las descripciones de PLL en bazo son excepcionales.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial incluye:

- Linfoma de células del manto. Es el principal diagnóstico diferencial, es necesario realizar ciclina D1 y/o descartar la presencia de la t(11;14).
- LLC-B con un aumento de prolinfocitos. El fenotipo por inmunohistoquímica y/o citometría de flujo (escore Matutes de LLC-B ayuda a establecer el diagnóstico).
- Linfoma esplénico de la zona marginal, con aumento de células grandes. La composición citológica de linfocitos pequeños junto con células con diferenciación marginal y blastos salpicados establece el diagnóstico frente a al relativo monomorfismo de la PLL

Este diagnóstico diferencial debe tener en cuenta la morfología y cifra de linfocitos en sangre periférica, fenotipo y características clínicas.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUIMICA (IHQ) e HBRIDACION IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20, FMC7, CD5, CD23, k/l, CD200.

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, CD5, CD23, ciclina D1,

Paneles de segunda línea: IgD, IgM

5. CITOGENETICA Y MOLECULAR

El estudio citogenético no es imprescindible pero sí recomendable por su utilidad en el diagnóstico diferencial. Ausencia de la t(11;14)(q13;q32), bien mediante FISH y/o cariotipo. Los cariotipos complejos son frecuentes y la del Del (17p) descrita en el 50% de los casos, generalmente asociada a mutaciones del *TP53*. La trisomía 12 es infrecuente y las deleciones del 13q14 se detectan en aproximadamente un 30% de los casos

RECOMENDACIONES

1. El estudio de sangre periférica y/o médula ósea es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de LPL. Grado B, nivel de evidencia III.
2. La morfología prolinfocítica no es sinónimo de LPL. Puede observarse en la progresión o, raramente al diagnóstico de otras leucemias/linfomas de linfocitos B. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Debe excluirse linfoma del manto leucémico mediante la ausencia de expresión de ciclina D1 y/o ausencia de t(11;14) mediante FISH. Grado C. Evidencia nivel IV
4. El estudio de cariotipo no es necesario en el panel diagnóstico habitual de la PLL. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Ruchlemer, R., N. Parry-Jones, V. Brito-Babapulle, I. Attolico, A. C. Wotherspoon, E. Matutes and D. Catovsky (2004). "B-prolymphocytic leukaemia with t(11;14) revisited: a splenomegalic form of mantle cell lymphoma evolving with leukaemia." *Br J Haematol* 125(3): 330-336.
2. Schlette, E., C. Bueso-Ramos, F. Giles, A. Glassman, K. Hayes and L. J. Medeiros (2001). "Mature B-cell leukemias with more than 55% prolymphocytes. A heterogeneous group that includes an unusual variant of mantle cell lymphoma." *Am J Clin Pathol* 115(4): 571-581.
3. Swerdlow SH CE, H. N., Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. (2008). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.

LINFOMA FOLICULAR (LF)

Autor para la correspondencia: José Luis Villar (jlwillar@us.es)

1. DEFINICIÓN

Neoplasia de células centrofoliculares constituida por centrocitos y centroblastos, que generalmente adopta un patrón nodular (folicular) pero que puede tener áreas difusas más o menos extensas.

2. FRECUENCIA Y FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS

- Es frecuente. Representa el 20% de todos los linfomas.
- Más frecuente en Europa y EE.UU. que en el resto del mundo.
- Adultos (6ª década de la vida), sin diferencia entre sexos.
- Hay una variante pediátrica, casi exclusiva de varones.

3. RASGOS CLÍNICOS Y VARIANTES CLÍNICO-PATOLÓGICAS**3.a. Presentación clínica**

- Adenopatías generalizadas (sólo el 30% debuta en estadios I-II), sin otra sintomatología. Es poco frecuente la aparición de síntomas B.
- Frecuente afectación de la médula ósea (60% de los casos) y del bazo.
- Menos frecuentemente: piel, anillo de Waldeyer, tubo digestivo, mama y testículos.
- La expresión leucémica (linfocitosis absoluta) del LF en el momento del diagnóstico varía según las series entre el 4-23% de los casos (Beltran, Quinones et al. 2013).

3.b. Curso clínico y progresión

- Curso clínico prolongado, con remisiones y recurrencias.
- El 25-35% de los LF progresan (sufren transformación) a un LBDCG, y con menos frecuencia a un linfoma de Burkitt o a uno con rasgos intermedios entre ambos.

3.c. Variantes clínico-patológicas

- *LF primario del intestino*: más frecuente en la segunda porción del duodeno, en forma de pequeños pólipos múltiples asintomáticos. La mayoría de los pacientes tiene una enfermedad localizada (estadio IE o IIE).
- *LF primario cutáneo*: lesión solitaria o pocas lesiones localizadas (sólo el 15% se presenta con lesiones generalizadas) en cabeza y tronco (clásicamente, en la espalda). En la mayoría de los casos no hay expresión de BCL2.
- *LF pediátrico*: afectación ganglionar y extraganglionar (anillo de Waldeyer, testículo). Tiene características clínico-patológicas singulares: folículos muy grandes, rasgos citológicos blastoides, alto índice de proliferación y ausencia de expresión de BCL2 y de la t(14;18)(q32;q21); se presenta con un bajo estadio clínico y en general se asocia a un buen pronóstico, aunque parece haber diferencias significativas según la localización anatómica (Liu, Salaverria et al. 2013).

4. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

- La biopsia por escisión del ganglio linfático o del tejido extraganglionar afectado es el procedimiento diagnóstico de elección y debe ser el método empleado en los casos de adenopatías palpables.
- La biopsia con aguja gruesa puede estar justificada en determinadas circunstancias clínicas. Es posible alcanzar el diagnóstico de LF si se emplean adecuadamente la inmunohistoquímica, los análisis de PCR/FISH y la citometría de flujo.
- La PAAF no es un procedimiento diagnóstico recomendable para el diagnóstico inicial de LF.

TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACIÓN

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de linfoma folicular. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y

se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH (estos en caso de que se demuestre infiltración por citometría de flujo-morfología).

5. RASGOS HISTOPATOLÓGICOS Y GRADOS HISTOLÓGICOS

5.a. Rasgos histopatológicos

- Borramiento de la arquitectura ganglionar normal.
- Patrón multinodular: nódulos (folículos) de tamaño similar, en estrecho contacto.
- Mantos ausentes o atenuados.
- Dos tipos celulares en los folículos: centroblastos (CB) y centrocitos (CC), sin distribución zonal ni macrófagos de cuerpo tingible.
- CC neoplásicos (generalmente más pequeños que los foliculares) en los espacios interfoliculares (este no es criterio de patrón difuso).
- En ocasiones, verdadero patrón difuso: áreas sin folículos constituidas por CB y CC. La proporción (<25%; 25-75% y >75%) de estas áreas difusas debe aparecer en el informe anatomopatológico.
- La presencia de áreas difusas en las que haya >15CB por campo de gran aumento es criterio suficiente para el diagnóstico de LBDCG. En este caso se debe informar como LBDCG y Linfoma B folicular del grado que corresponda.
- En un pequeño porcentaje de LF se advierten áreas de diferenciación marginal/monocitoide en la periferia de los folículos, que forman parte de la población neoplásica.

5.b. Grados histológicos

- Según el número de CB por campo de gran aumento (contar al menos 10 campos en diferentes folículos).
- Grado 1: 0-5; Grado 2: 6-15; Grado 3A: >15 (con CC presentes); Grado 3B: >15 (no hay CC).
- Se recomienda incluir el grado en el informe anatomopatológico.

5.c. LF *in situ*

- En un ganglio con la arquitectura conservada y aspecto reactivo, uno o varios folículos contienen CC que sobreexpresan de forma intensa BCL2 y CD10 y tienen la translocación t(14;18)(q32;q21). Estas células están limitadas al centro germinal, sin compromiso del espacio interfolicular.
- La progresión de un LF *in situ* a un LF establecido es rara (~6% de los casos) y requiere la adquisición de adicionales alteraciones cromosómicas y genéticas (Schmidt, Salaverria et al. 2014).- Más frecuente es la coexistencia simultánea de un LF *in situ* y un LF establecido (16-23% de los casos). Por tanto, en individuos sin un LF conocido es recomendable sugerir un estudio clínico para su despistaje (Cong, Raffeld et al. 2002). En ocasiones se encuentra LF *in situ* en asociación con otros tipos de linfomas (Linfoma de Hodgkin, LZM, CLL/SLL) (Montes-Moreno, Castro et al. 2010, Jegalian, Eberle et al. 2011).
- El LF *in situ* es muy distinto de la afectación parcial de un ganglio por un LF establecido. Los casos de afectación parcial por LF muestra expresión moderada de BCL2 en los folículos neoplásicos, extensión interfolicular y habitualmente estadios clínicos limitados (estadios I, II) (Adam, Katzenberger et al. 2005).

5.d. Afectación de la médula ósea

- Típicamente, afectación paratrabecular focal con células de aspecto centrocítico aunque puede mostrar patrones de afectación intersticial nodular. Es preciso realizar estudio IHQ con CD20 y CD3 para descartar infiltrados sutiles morfológicamente.

6. PANEL DE INMUNOHISTOQUÍMICA

- El linfoma folicular típicamente expresa Slg, CD20, CD79a, BCL2, BCL6, CD10 y, en las áreas foliculares, CD21 y/o CD23 en las células dendríticas foliculares (éstos últimos pueden ser útiles para distinguir entre folículos confluentes y áreas difusas). En ocasiones se observa sobreexpresión de CD23 por las células neoplásicas.

- En pacientes tratados con anti-CD20 pueden ser útiles otros marcadores de línea B como PAX5, OCT2.
- El linfoma folicular típicamente *no* expresa CD3, CD5, CD43, MUM1. Un pequeño subgrupo de LF es CD5 positivo y otro subgrupo es CD10-MUM1+.
- El índice de proliferación (Ki67) varía entre <20% (LF de grado 1-2) y >20% (LF de grado 3).

7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

7.a. Diagnóstico diferencial

- Hiperplasia folicular reactiva
- Linfoma del manto
- Linfoma linfocítico con centros de proliferación (pseudofolículos) prominentes
- Linfoma de la zona marginal con colonización centrofolicular
- Linfoma de Hodgkin tipo predominio linfocítico

7.b. Causas de errores diagnósticos

- BCL2 puede ser negativo en linfomas foliculares, particularmente en los de grado 3 (50% de los casos). Por tanto, la ausencia de expresión de BCL2 no excluye el diagnóstico de LF.
- El LF puede presentar patrones histológicos atípicos: afectación parcial del ganglio, afectación parcial de algunos folículos linfoides no neoplásicos, folículos irregulares serpinginosos, patrón floral, patrón invertido o patrón difuso puro (sin áreas nodulares).
- El LF puede estar constituido por tipos celulares atípicos: centroblastos con núcleo lobulado o apariencia linfoblástica, células en anillo de sello, con diferenciación plasmocelular...
- Las células del LF pueden mostrar focalmente una distribución perifolicular, con la apariencia cito-histológica de un linfoma de la zona marginal.
- El LF puede mostrar expresión aberrante de CD5 y CD23; y puede ser negativo para CD10, en especial si es de grado 3B. Algunos casos de linfoma folicular grado 3 expresan CD43.
- El linfoma centrofolicular cutáneo es en la mayoría de los casos BCL2 negativo. La infiltración cutánea por Linfoma B Folicular sistémico es BCL2 positiva.
- El LF que debuta con afectación digestiva es una enfermedad habitualmente localizada.
- El LF pediátrico presenta folículos muy grandes (de aspecto hiperplásico) y con frecuencia es BCL2 negativo.

8. CITOGENÉTICA Y DATOS MOLECULARES

- El linfoma folicular frecuentemente presenta la t(14;18)(q32;q21), que produce el reordenamiento del gen *BCL2* con la *IGH*. Alternativamente el gen *BCL2* se reordena con los genes de las cadenas ligeras. Debido a la variabilidad en los puntos de ruptura del gen *BCL2*, el método más sensible y específico para la identificación del reordenamiento *BCL2* es la FISH utilizando una sonda tipo break apart (tejido) o Dual color dual fusión (muestra MO o SP con infiltración tumoral, o células en suspensión obtenidas por ruptura mecánica de muestra de tejido). El estudio de PCR para detectar reordenamientos de *BCL2* no es una alternativa en el ámbito diagnóstico por su escasa sensibilidad (véase capítulo de estudio molecular).
- El estudio citogenético con muestras estimuladas 72 horas con TPA no es imprescindible para el diagnóstico de LF, aunque si recomendable, siempre que sea posible, ya que permite identificar anomalías secundarias con potencial valor pronóstico. Los cariotipos complejos con más de seis anomalías, las translocaciones que afectan al 8q24 (*MYC*), las deleciones de 1p, 6q, 17p así como las ganancias del cromosoma 12 o 18p entre otros parecen asociarse a un pronóstico desfavorable
- Se recomienda el estudio de la traslocación de *BCL2* por FISH en los casos con inmunofenotipo aberrante y/o patrón histológico atípico.
- La translocación t(14;18) del *BCL2* está presente en el 90% de los LF de grado 1-2, y con mucha menos frecuencia en los de grado 3.

- Otras translocaciones son raras en el LF, pero pueden ocurrir. En LF de grado 3 sin la t(14;18) es recomendable emplear la sonda *break-apart* para *BCL6* (el reordenamiento de *BCL6* está presente en el 5-15% de los LF, en su mayoría de grado 3B). El estudio de *BCL6* también puede ser de utilidad en los LF pediátricos. Asimismo existe un subgrupo de Linfomas B de fenotipo GCB (LF y LBDCG) con reordenamientos de IRF4/MUM1 (Salaverria, Philipp et al. 2011).
- Un pequeño subgrupo de LF sin la t(14;18)(q32;q21) y caracterizado por un patrón predominantemente difuso se asocia a deleciones en 1p36 (Katzenberger, Kalla et al. 2009).
- La transformación a LBDCG conlleva la adquisición de adicionales alteraciones genéticas divergentes, particularmente la translocación del gen *MYC* y otras relacionadas con la disregulación del ciclo celular y la respuesta al daño del DNA, o hipermutaciones somáticas. En general, estos linfomas de células grandes secundarios a un LF presentan una combinación singular de alteraciones en oncogenes y genes supresores que lo distinguen del LBDCG *de novo* (Pasqualucci, Khiabani et al. 2014).

9. PRONÓSTICO Y FACTORES PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN

- La extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico y el Índice Pronóstico Internacional para LF (FLIPI) son importantes factores predictivos de su curso clínico.
- En el FLIPI-2, la afectación de la médula ósea en LF se considera de manera específica un factor pronóstico adverso, aunque su utilidad en la práctica asistencial está siendo evaluada (Federico, Bellei et al. 2009, Freedman 2014).
- El grado histológico es un buen factor predictivo del curso de la enfermedad y de la progresión a LBDCG.
- La presencia de áreas difusas en LF de grado 1-2 no influye en el pronóstico; los de grado 3 con >25% de áreas difusas tienen peor pronóstico que los puramente nodulares.
- En general, el índice de proliferación se correlaciona con el grado histológico, pero hay un subgrupo de LF grado 1-2 con un alto índice de proliferación que se comporta de un modo similar al LF de grado 3.
- Aunque la OMS (2008) no lo considera un dato exigible en el informe anatomopatológico, un índice de proliferación (Ki67) igual o superior al 10% parece ser un factor pronóstico independiente que se asocia a una peor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global (Yamamoto, Tomita et al. 2013).
- Las características del microambiente tumoral, aunque todavía con bajo nivel de evidencia, podría convertirse en un factor predictivo de la evolución del LF (Fend and Quintanilla-Martinez 2014).

RECOMENDACIONES

1. El LF se presenta típicamente en la edad adulta con adenopatías generalizadas, pero no siempre es así. No se debe excluir de entrada en casos con afectación extraganglionar, enfermedad localizada, expresión leucémica o en la edad pediátrica. Grado C. Evidencia nivel IV
2. La proporción de áreas difusas y el grado histológico del LF deben aparecer en el informe anatomopatológico. Grado C. Evidencia nivel IV
3. La presencia de áreas difusas en las que haya >15CB por campo de gran aumento es criterio suficiente para el diagnóstico de LBDCG. En este caso se debe informar como LBDCG y Linfoma B folicular del grado que corresponda. Grado B, nivel de evidencia III.
4. El panel inmunohistoquímico de primera línea para el diagnóstico de LF debe incluir: CD20, CD3, BCL2, BCL6, CD10, ciclina D1 y Ki67. Grado C. Evidencia nivel IV
5. El panel inmunohistoquímico de segunda línea para el diagnóstico de LF puede incluir: MUM1, PAX5, OCT2, CD21, CD23, p53. Grado C. Evidencia nivel IV
6. En la biopsia de estadiaje de MO es preciso realizar estudio IHQ con CD20 y CD3 para descartar infiltrados sutiles morfológicamente. PAX5 puede ser de utilidad en pacientes previamente tratados con inmunoterapia. Grado C. Evidencia nivel IV

7. En el caso del LF in situ aislado incluir una nota en el informe acerca del significado de la lesión y la conveniencia de realizar un estudio clínico para descartar LF establecido (técnicas de imagen, TAC y biopsia de MO). Grado B, nivel de evidencia III.
8. El estudio citogenético no es imprescindible para el diagnóstico de LF aunque si recomendable, especialmente en los casos de morfología o fenotipo atípicos. Grado C. Evidencia nivel IV
9. Se recomienda el estudio por FISH del reordenamiento de BCL2 con sondas de tipo BA. En LF de grado 3 sin la t(14;18) es recomendable emplear la sonda break-apart para BCL6. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Adam, P., T. Katzenberger, M. Eifert, M. M. Ott, A. Rosenwald, H. K. Müller-Hermelink and G. Ott (2005). "Presence of preserved reactive germinal centers in follicular lymphoma is a strong histopathologic indicator of limited disease stage." *Am J Surg Pathol* 29(12): 1661-1664.
2. Beltran, B. E., P. Quinones, D. Morales, J. C. Alva, R. N. Miranda, G. Lu, B. D. Shah, E. M. Sotomayor and J. J. Castillo (2013). "Follicular lymphoma with leukemic phase at diagnosis: a series of seven cases and review of the literature." *Leuk Res* 37(9): 1116-1119.
3. Cong, P., M. Raffeld, J. Teruya-Feldstein, L. Sorbara, S. Pittaluga and E. S. Jaffe (2002). "In situ localization of follicular lymphoma: description and analysis by laser capture microdissection." *Blood* 99(9): 3376-3382.
4. Federico, M., M. Bellei, L. Marcheselli, S. Luminari, A. Lopez-Guillermo, U. Vitolo, B. Pro, S. Pileri, A. Pulsoni, P. Soubeyran, S. Cortelazzo, G. Martinelli, M. Martelli, L. Rigacci, L. Arcaini, F. Di Raimondo, F. Merli, E. Sabbatini, P. McLaughlin and P. Solal-Celigny (2009). "Follicular lymphoma international prognostic index 2: a new prognostic index for follicular lymphoma developed by the international follicular lymphoma prognostic factor project." *J Clin Oncol* 27(27): 4555-4562.
5. Fend, F. and L. Quintanilla-Martinez (2014). "Assessing the prognostic impact of immune cell infiltrates in follicular lymphoma." *Haematologica* 99(4): 599-602.
6. Freedman, A. (2014). "Follicular lymphoma: 2014 update on diagnosis and management." *Am J Hematol* 89(4): 429-436.
7. Jegalian, A. G., F. C. Eberle, S. D. Pack, M. Mirvis, M. Raffeld, S. Pittaluga and E. S. Jaffe (2011). "Follicular lymphoma in situ: clinical implications and comparisons with partial involvement by follicular lymphoma." *Blood* 118(11): 2976-2984.
8. Katzenberger, T., J. Kalla, E. Leich, H. Stocklein, E. Hartmann, S. Barnickel, S. Wessendorf, M. M. Ott, H. K. Müller-Hermelink, A. Rosenwald and G. Ott (2009). "A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36." *Blood* 113(5): 1053-1061.
9. Liu, Q., I. Salaverria, S. Pittaluga, A. G. Jegalian, L. Xi, R. Siebert, M. Raffeld, S. M. Hewitt and E. S. Jaffe (2013). "Follicular lymphomas in children and young adults: a comparison of the pediatric variant with usual follicular lymphoma." *Am J Surg Pathol* 37(3): 333-343.
10. Montes-Moreno, S., Y. Castro, S. M. Rodriguez-Pinilla, J. F. Garcia, M. Mollejo, M. E. Castillo, A. Bas-Vernal, C. Barrionuevo-Cornejo, L. Sanchez-Verde, J. Menarguez, J. C. Cigudosa and M. A. Piris (2010). "Intrafollicular neoplasia/in situ follicular lymphoma: review of a series of 13 cases." *Histopathology* 56(5): 658-662.

11. Pasqualucci, L., H. Khiabani, M. Fangazio, M. Vasishtha, M. Messina, A. B. Holmes, P. Ouillette, V. Trifonov, D. Rossi, F. Tabbo, M. Ponzoni, A. Chadburn, V. V. Murty, G. Bhagat, G. Gaidano, G. Inghirami, S. N. Malek, R. Rabadan and R. Dalla-Favera (2014). "Genetics of follicular lymphoma transformation." *Cell Rep* 6(1): 130-140.
12. Salaverria, I., C. Philipp, I. Oschlies, C. et al. . Molecular Mechanisms in Malignant Lymphomas Network Project of the Deutsche, G. German High-Grade Lymphoma Study and N. H. L. t. g. Berlin-Frankfurt-Munster (2011). "Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults." *Blood* 118(1): 139-147.
13. Schmidt, J., I. Salaverria, A. Haake, I. Bonzheim, P. Adam, S. Montes-Moreno, M. A. Piris, F. Fend, R. Siebert and L. Quintanilla-Martinez (2014). "Increasing genomic and epigenomic complexity in the clonal evolution from in situ to manifest t(14;18)-positive follicular lymphoma." *Leukemia* 28(5): 1103-1112.
14. Yamamoto, E., N. Tomita, S. Sakata, N. Tsuyama, K. Takeuchi, Y. Nakajima, K. Miyashita, T. Tachibana, H. Takasaki, M. Tanaka, C. Hashimoto, H. Koharazawa, K. Fujimaki, J. Taguchi, H. Harano, S. Motomura and Y. Ishigatsubo (2013). "MIB-1 labeling index as a prognostic factor for patients with follicular lymphoma treated with rituximab plus CHOP therapy." *Cancer Sci* 104(12): 1670-1674.

LINFOMAS DE LA ZONA MARGINAL

Autor para la correspondencia: *Manuela Mollejo* (mmollejov@sescam.jccm.es).

LINFOMA ESPLÉNICO DE LA ZONA MARGINAL

1. DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

El linfoma esplénico de la zona marginal (LEZM) es un linfoma de células pequeñas y curso clínico indolente caracterizado por infiltración del bazo, médula ósea y sangre periférica. Es poco frecuente, alrededor del 2% de los síndromes linfoproliferativos. Hay casos asociados al virus de la hepatitis C, y en África subsahariana se ha documentado un cuadro idéntico al LZME con linfocitos vellosos asociado con malaria. El LZME aparece en personas de edad avanzada (media de 65 años) y se manifiesta con esplenomegalia, linfocitosis y citopenias de intensidad variable, debidas principalmente a la esplenomegalia más que a la infiltración de la médula. En el 20% de los casos pueden detectarse otros fenómenos autoinmunes. En un tercio de los casos se detecta un pico monoclonal, más frecuentemente IgG. Suele haber elevación de B2M y de LDH pero no síntomas B. En un 10-13% de los casos puede haber transformación a LBDCG, que puede ocurrir en el bazo, ganglios y/o médula ósea, con elevación de LDH, afectación sistémica, síntomas B, aparición de lesiones ocupantes de espacio en el bazo y comportamiento clínico agresivo.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

Los criterios del diagnóstico están recogidos en el documento del "SMZL working group" (Matutes, Oscier et al. 2008) y en la clasificación de las neoplasias hematológicas de la OMS de 2008 (Swerdlow SH CE 2008). El diagnóstico se puede establecer con el estudio de los datos morfológicos, fenotípicos y moleculares de sangre periférica y médula ósea y/o estudio de la pieza de esplenectomía.

Sangre periférica: En la sangre periférica casi siempre se detecta una población clonal de linfocitos, que suele ser superior a $5 \times 10^3/\mu\text{L}$, pero sin alcanzar valores superiores a $25 \times 10^3/\mu\text{L}$. En el frotis se observan linfocitos de pequeño y mediano tamaño, células con diferenciación plasmocitoide y se suelen identificar,

aunque no siempre, linfocitos vellosos con prolongaciones polares características, aunque su proporción varía en los diferentes casos del 5% al 90% de los linfocitos.

Biopsia médula ósea: Infiltrado intersticial, intrasinusoidal y nódulos intertrabeculares. La médula está afectada prácticamente en todos los casos, aunque a veces es muy leve y solo se puede demostrar con tinción para CD20 que marca la infiltración intrasinusoidal e intersticial. Un rasgo útil es la presencia de dendríticas marcadas con CD23 en los nódulos linfoides, reflejando el reemplazamiento folicular como en el bazo.

Pieza de esplenectomía: Patrón micronodular, centrado en la pulpa blanca, con un componente interior de linfocitos pequeños que reemplaza el centro germinal con borramiento del manto normal. Este componente está rodeado por una zona periférica de células de pequeño y mediano tamaño con citoplasmas amplios y con blastos salpicados (diferenciación marginal). Se observa infiltración en la pulpa roja en una intensidad variable y con una composición celular semejante a la de la pulpa blanca. Se pueden observar histiocitos epitelioides. Como en otros linfomas de células pequeñas se puede observar diferenciación plasmacítica, con presencia de nidos de células plasmáticas en los centros.

Ganglio linfático: Es muy raro la afectación de ganglios periféricos por LEZM. Sin embargo, sí se suelen afectar los ganglios hilio esplénico. En esta muestra el tumor presenta un patrón nodular, con un crecimiento del linfoma alrededor de los centros, reemplazándolos y formado por una composición citológica semejante a la del bazo, pero la diferenciación marginal no es tan evidente.

Cada vez se realiza con más frecuencia el diagnóstico en sangre y/o médula porque está disminuyendo la realización de esplenectomía con fines terapéuticos al utilizarse otras opciones (inmunoterapia con rituximab u otras combinaciones).

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

- Es importante tener en cuenta que este tumor no tiene un marcador propio, y que rasgos morfológicos descritos en médula, sangre y bazo pueden manifestarse en otros linfomas de células pequeñas cuando infiltran estas localizaciones.
- El diagnóstico diferencial se plantea con otros linfomas de células pequeñas:
 1. Linfoma de células del manto, la expresión de ciclina D1 excluye el diagnóstico de LEZM.
 2. Linfoma folicular: la coexpresión de folículos de bcl2 y bcl6 favorece el diagnóstico de linfoma folicular. El mayor problema es de LEZM con linfoma folicular *BCL2* negativo. En estos casos, el patrón de tinción con Ki67 (anular o diana) en LEZM, frente a localización en centros en LF, y la expresión en esos centros de Bcl6 ayuda al diagnóstico.
 3. Linfoma linfoplasmacítico. Este diagnóstico se establece principalmente en los casos de LEZM con diferenciación plasmacítica. En estos casos el estudio de mutaciones de MYD88 puede ayudar.
 4. LLC-B. Este diagnóstico se establece en la mayoría de las ocasiones en sangre periférica y médula ósea. La coexpresión de CD5, CD23 favorece el diagnóstico de LLC.
 5. El diagnóstico diferencial con otros linfomas de la zona marginal requiere correlación con los datos clínicos y localización del linfoma.
- Es importante diferenciar el LEZM de las poblaciones monoclonales de linfocitos B, como las asociadas a hepatitis virus C, procesos autoinmunes como artritis reumatoide, lupus, etc. Para establecer un diagnóstico preciso es necesario una correlación clínico-patológica.

4. PANELES DE IHQ

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20/CD22, CD200, CD11c, CD25, CD103, CD123, k/l.

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, bcl2, bcl6, ciclina D1, CD23, Ki67. El patrón de tinción con bcl2 y Ki67 ayudan al diagnóstico de este tumor. Bcl2 permite identificar reemplazamiento de centros bcl2 negativos por células tumorales bcl2+. Con Ki67 se puede observar el patrón en diana, con tinción en el centro de las células del centro residuales y en la zona periférica (marginal), o bien patrón anular, destacando las células proliferantes en la zona marginal, cuando se ha producido el reemplazamiento total del centro por el tumor.

No existe un marcador propio de este tumor, por lo que es necesario descartar otros linfomas de células pequeñas con marcadores relativamente específicos como ciclina D1 para excluir linfoma del manto, y bcl6 para excluir linfoma folicular.

Panel de segunda línea: Anexina 1, IgD, IGG, kappa, lambda, LEF1

5. CITOGENETICA/MOLECULAR

Los estudios citogenéticos revelan anomalías en el 70-80% de los casos siendo complejos en el 50%. Entre las anomalías más frecuentes se encuentran las trisomías totales o parciales de los cromosomas 3/3q(30-80%) y 12q(15-20%) y deleciones del 6q y del 7q. Ésta última se detecta en el 45% de los casos, siendo excepcional en otros linfomas de células pequeñas. Otras alteraciones citogenéticas descritas son anomalías de 1q, 8q, 9p, 14q, 18q, y deleciones del 17p.ésta última junto con la presencia de cariotipos complejos parecen asociarse a un pronóstico más desfavorable.

La ausencia de la t(11;14)(q13;q32) y la t(14;18)(q32;q21) ayudarán a excluir linfoma del manto y linfoma folicular, especialmente cuando solo se disponga de médula ósea y/o sangre periférica.

Estudios de secuenciación masiva han mostrado mutaciones del gen NOTCH2 en ~20 % de los casos(Rossi, Trifonov et al. 2012, Martinez, Almaraz et al. 2014). Mutaciones del gen MYD88 son poco frecuentes, hasta el 19% en algunas series(Jimenez, Sebastian et al. 2013) y las mutaciones de BRAF son excepcionales en este tumor. Su estudio puede ayudar al diagnóstico diferencial con LPL y tricoleucemia, respectivamente.

RECOMENDACIONES.

1. El diagnóstico se puede establecer en el estudio de muestra de sangre periférica y médula ósea y/o pieza de esplenectomía. Grado C. Evidencia nivel IV
2. No es imprescindible el estudio del bazo para establecer el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
3. El diagnóstico diferencial con otros linfomas de células pequeñas más relevante clínicamente es con el linfoma del manto, por lo que es necesario excluir este diagnóstico mediante la tinción con ciclina D1 y/o estudio de reordenamiento de CCND1 mediante FISH. Grado C. Evidencia nivel IV
4. La presencia de linfocitos vellosos no es exclusiva de este tumor, otros linfomas de células pequeñas pueden presentar linfocitos vellosos, como linfoma manto, folicular, linfoplasmácítico, o linfoma difuso de la pulpa roja. Grado C. Evidencia nivel IV
5. La infiltración intrasinusoidal no es exclusiva de este tumor, se puede ver en otros linfomas. Es necesario integrar el resto de datos morfológicos y fenotípicos para hacer un diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
6. La diferenciación marginal observada en el bazo no es exclusiva de LEZM, otros linfomas de células pequeñas cuando infiltran el bazo pueden manifestar este aspecto morfológico, por lo que hay que tener en cuenta otros datos morfológicos y fenotípicos. Grado C. Evidencia nivel IV
7. En las biopsia de médula ósea es necesario realizar CD20 para detectar la infiltración, a veces no visible con la HE. Grado C. Evidencia nivel IV
8. El estudio citogenético no es necesario pero es recomendable dado que puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Mollejo M, Menárguez J, Guisado-Vasco P, Bento L, Algara P, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla MS, Cruz MA, Casado F, Montalbán C, Piris MA. Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders encompass a broader clinical and morphological spectrum than previously recognized: a clinicopathological study. Mod Pathol. 2014 Feb;27(2):281-93

2. Montalban C, Abraira V, Arcaini L, Domingo-Domenech E, Guisado-Vasco P, Iannitto E, Mollejo M, Matutes E, Ferreri AJ, Salar A, Rattotti S, Carpaneto A, Perez R, Bello JL, Hernandez M, Caballero D, Carbonell F, Piris MA; Splenic Marginal Zone Lymphoma Study Group (SMZLSG). Simplification of risk stratification for splenic marginal zone lymphoma: a point-based score for practical use. *Leuk Lymphoma*. 2014 Apr;55(4):929-31.
3. Wotherspoon AC. Extranodal and splenic small B-cell lymphoma. *Mod Pathol*. 2013 Jan;26 Suppl 1:S29-41. Review.
4. Piris MA, Arribas A, Mollejo M. Marginal zone lymphoma. *Semin Diagn Pathol*. 2011 May;28(2):135-45. Review.
5. Manuela Mollejo, María S. Rodríguez-Pinilla, M, Santiago Montes-Moreno, Patrocinio Algara, Ahmet Dogan, Juan C. Cigudosa, Rocío Juárez, Teresa Flores, Jerónimo Forteza, Alberto Arribas, Miguel A. Piris. Splenic Follicular Lymphoma. Clinicopathologic Characteristics of a Series of 32 Cases. *Am J Surg Pathol*. 2009 May;33(5):730-8.
6. Salido M, Baro C, Oscier D, Stamatopoulos K, Dierlamm J, Matutes E et al. Cytogenetic aberrations and their prognostic value in a series of 330 splenic marginal lymphomas: a multicenter study of the Splenic B-cell Lymphoma Group. *Blood*, 2010; 116; 1479-1488
7. Swerdlow SH, Campos E, Harris NL, et al. Pathology and genetics of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed. Lyon: IARC Press, 2008.
8. Matutes E, Oscier D, Montalban C, et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia*, 2008;22;487-495
9. Camacho FI, Mollejo M, Mateo MS, Algara P, Navas C, Hernandez JM, Santoja C, Sole F, Sanchez-Beato M, Piris MA. Progression to large B-cell lymphoma in splenic marginal zone lymphoma: a description of a series of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 2001 Oct;25(10):1268-76.
10. Piris MA, Mollejo M, Campo E, Menárguez J, Flores T, Isaacson PG. A marginal zone pattern may be found in different varieties of non-Hodgkin's lymphoma: the morphology and immunohistology of splenic involvement by B-cell lymphomas simulating splenic marginal zone lymphoma. *Histopathology*. 1998 Sep;33(3):230-9.
11. Mollejo M, Lloret E, Menárguez J, Piris MA, Isaacson PG. Lymph node involvement by splenic marginal zone lymphoma: morphological and immunohistochemical features. *Am J Surg Pathol*. 1997 Jul;21(7):772-80.
12. Mollejo M, Menárguez J, Lloret E, Sánchez A, Campo E, Algara P, Cristóbal E, Sánchez E, Piris MA. Splenic marginal zone lymphoma: a distinctive type of low-grade B-cell lymphoma. A clinicopathological study of 13 cases. *Am J Surg Pathol*. 1995 Oct;19(10):1146-57.

LINFOMA DE LA ZONA MARGINAL, TIPO MALT

1. DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

El linfoma de la zona marginal asociado a tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) se caracteriza por una proliferación linfoide con un patrón de crecimiento perifolicular con colonización de los centros germinales

y extensión perifolicular. Está formada por linfocitos pequeños, células B monocitoides, plasmáticas en una proporción variable y aislados blastos. En mucosas, los linfocitos infiltran el epitelio y forman las llamadas lesiones linfoepiteliales. Los linfomas MALT representan un 8% de los linfomas B y un 50% de los linfomas primarios gástricos.

En muchos casos de linfomas MALT existen lesiones precursoras. Hay una historia de infiltrado inflamatorio crónico, debido a infección, proceso autoinmune o un estímulo desconocido que produce acúmulo de tejido linfoide en una localización extraganglionar, que posteriormente da lugar al linfoma MALT. Entre estas lesiones precursoras se encuentran gastritis por *helicobacter pilory*, tiroiditis de Hashimoto o síndrome de Sjögren.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

Biopsia de la localización extraganglionar afecta. Localizaciones más frecuentes: tracto gastrointestinal (gástrica), pulmón, cabeza y cuello, salivar, ocular, piel.

Biopsia de médula ósea: No está indicada en la mayoría de los linfomas MALT, porque un alto porcentaje de casos se presentan en estadios localizados. Cuando hay infiltración, el patrón de infiltración puede ser intersticial, nodular o difuso.

3. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece por un lado con procesos reactivos y por otro, con otros linfomas B de células pequeñas.

Los datos favorables al diagnóstico de linfoma frente al de proceso reactivo son el patrón infiltrante del componente linfoide, anomalías fenotípicas/citogenéticas, evidencia indirecta de monoclonalidad por restricción de cadenas ligeras y/o estudio molecular de reordenamiento monoclonal de los genes de Ig.

No hay un marcador específico de este linfoma, por lo que es necesario realizar inmunohistoquímica para descartar otros linfomas de células pequeñas.

Hay que tener en cuenta la hiperplasia marginal atípica con restricción de cadenas ligeras, descrita en la infancia, que plantea DD con linfoma de la zona marginal.

4. PANELES DE IHQ

Panel de primera línea: CD20, CD3, ciclina D1, bcl2, bcl6, Mib1, kappa, lambda

Panel de segunda línea: CD38, IgD, CD23, IRTA1

5. CITOGENETICA/MOLECULAR

Se han descrito translocaciones asociadas a linfomas MALT, incluyendo la t(11;18)(q21;q21) que implica a *API2-MALT1* y las t(1;14)(p22;q32), t(14;18)(q32;q21) y la t(3;14)(p14.1;q32), que desregulan los factores de transcripción BCL10, MALT1 Y FOXP1 respectivamente. Estas alteraciones tienen cierta predisposición a producirse en determinadas localizaciones:

- La t(11;18)(q21;q21)(*API2-MALT1*) (15-40%) detectada especialmente en MALT gástricos (10-40%), se asocia a una pobre respuesta al tratamiento antibiótico erradicador del H pilory (<5%) y por ello en estos casos debe considerarse la adición de tratamientos alternativos. Esta anomalía también se detecta en MALT pulmonares
- t(14;18)(q32;q21)(*IGH-MALT1*)(20%) se detecta principalmente en linfomas anejos oculares/órbita y glándula salival
- la t(3;14)(p14.1;q32)(*IGH-FOXP1*) (<5%) asociado fundamentalmente a MALT de tiroides, anejos oculares/órbita y piel.
- la t(1;14)(p22;q32)(*IGH-BCL10*) (<5%), detectado fundamentalmente en los MALT gástricos y pulmonares

Se han descrito deleciones/mutaciones de A20 en el 19%, 8% y 11 % de los linfomas MALT ocular, salival y tiroides respectivamente.

Las trisomías del cromosoma 3 y 18 y las deleciones del 6q, también son frecuentes en este tipo de linfomas, independientemente de la localización anatómica.

Se han descrito mutaciones de MYD88 en el 9%.

RECOMENDACIONES.

1. Las lesiones linfoepiteliales no son específicas de los MALT, se pueden observar en otros linfomas infiltrando epitelios y en condiciones reactivas. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Hay que recordar que otros linfomas B de células pequeñas pueden presentarse clínicamente infiltrando localizaciones extraganglionares. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Como otros linfomas B de células pequeñas puede presentar diferenciación plasmacítica. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Se pueden observar células grandes salpicadas en la zona marginal, y eso no es sinónimo de linfoma B difuso de células grandes. Solo cuando se observen zonas difusas formadas por células grandes, el diagnóstico será linfoma B difuso de células grandes con un componente de linfoma MALT. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Por la ausencia de marcadores específicos, y por la dificultad de realizar el diagnóstico diferencial con procesos reactivos/precursores, es necesario hacer una correlación clínico-patológica para establecer el diagnóstico definitivo. Grado C. Evidencia nivel IV
6. En casos en los que no haya evidencia indirecta de monoclonalidad mediante estudio IHQ con cadenas ligeras se recomienda realizar estudio de clonalidad de IG para demostrar objetivamente monoclonalidad. Grado C. Evidencia nivel IV
7. Los estudios citogenéticos pueden ser de ayuda en el diagnóstico diferencial. En los linfomas MALT gástrico, se recomienda realizar el estudio de $t(11;18)(q21;q21)(API2-MALT1)$, ya que esta traslocación predice una pobre respuesta al tratamiento antibiótico. Grado B, nivel de evidencia III

REFERENCIAS

1. Thieblemont C, Bertoni F, Copie-Bergman C, Ferreri AJ, Ponzoni M. Chronic inflammation and extra-nodal marginal-zone lymphomas of MALT-type. *Semin Cancer Biol.* 2014 Feb;24:33-42
2. Ferreri AJ, Govi S, Ponzoni M. Marginal zone lymphomas and infectious agents. *Semin Cancer Biol.* 2013 Dec;23(6):431-40.
3. Suarez F, Lortholary O, Hermine O, Lecuit M. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood.* 2006 Apr 15;107(8):3034-44. Review.

LINFOMA DE LA ZONA MARGINAL, TIPO GANGLIONAR

1. DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

El linfoma de la zona marginal tipo ganglionar (NMZL) es una neoplasia de células B que se asemeja morfológicamente a los ganglios infiltrados por linfoma de la zona marginal tipo MALT o esplénico pero sin afectación de una localización extraganglionar ni del bazo.

Es muy poco frecuente, alrededor del 1,5-1,8% de las neoplasias linfoides. Se han descrito casos asociados a virus de la hepatitis C.

Existe un subtipo clínico-patológico, el linfoma de la zona marginal pediátrico. Se suele presentar en varones, en un estadio clínico inicial y en una sola localización ganglionar. Tienen un curso excelente con baja proporción de recidivas con tratamiento conservador.

2. TIPO DE MUESTRA PARA DIAGNOSTICO

La muestra ideal para el diagnóstico es la biopsia escisional del ganglio linfático afectado. Es muy rara la afectación de médula ósea y sangre periférica.

Biopsia ganglio: Muestra una proliferación linfoide con un patrón perifolicular, colonizando centros y con crecimiento en las áreas interfoliculares. La composición citológica es semejante a los otros linfomas de la zona marginal: linfocitos pequeños, células plasmáticas, linfocitos con diferenciación marginal y aislados blastos. La tinción para dendríticas destaca el patrón nodular con centros residuales.

3. TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLOGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACION.

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LZMG. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH (estos en caso de que se demuestre infiltración por citometría de flujo-morfología

4. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El diagnóstico diferencial se plantea especialmente con el linfoma folicular, linfoma linfoplasmacítico y con la infiltración ganglionar por un linfoma de la zona marginal tipo MALT o esplénico.

Por otro lado, se plantea diagnóstico diferencial con hiperplasias foliculares reactivas.

5. PANELES DE IHQ

No existe un marcador propio de este linfoma, para establecer el diagnóstico hay que excluir marcadores de otros linfomas y utilizar los que destaquen el patrón arquitectural.

Panel de primera línea: CD20, CD3, bcl2, bcl6, ciclina D1, CD23, MIB1

Panel de segunda línea: IgD, kappa, lambda, MNDA

6. CITOGENETICA/MOLECULAR

No existe marcador específico de este tumor. No son frecuentes las traslocaciones descritas en los linfomas marginales MALT ni la del7q31-32 del linfoma esplénico de la zona marginal. Entre las anomalías más frecuentemente detectadas se encuentra la trisomías de los cromosomas 3, 7,12 y 18 y las traslocaciones del cromosoma 1.

En ocasiones puede ser necesario la demostración de clonalidad por PCR para confirmar el diagnóstico de linfoma de la zona marginal y diferenciarlo de proceso reactivo.

RECOMENDACIONES.

1. La biopsia escisional/incisional del ganglio es necesaria para el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Por la ausencia de marcadores propios, hay que incluir en el panel de inmunohistoquímica ciclina D1 y BCL6 para excluir linfoma del manto y folicular respectivamente. Grado C. Evidencia nivel IV
3. La presencia de folículos es constante, y la tinción para dendríticas (CD21/CD23) destacan el patrón nodular del tumor con la existencia de centros germinales reemplazados por el tumor. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Correlacionar con la historia clínica para descartar infiltración de órgano extraganglionar o esplénica. Grado C. Evidencia nivel IV

5. Diferenciación marginal se puede observar en linfomas foliculares. Grado C. Evidencia nivel IV
6. Cuando presenta diferenciación plasmacítica y plantea diagnóstico diferencial con LPL, se puede realizar un diagnóstico de linfoma B de células pequeñas con diferenciación plasmacítica y proponer las diferentes opciones. Grado C. Evidencia nivel IV
7. El número de células grandes que se ven en los LZM ganglionares suele ser mayor que en los otros tipos, MALT y esplénico. Sin embargo, para considerarlo un linfoma B difuso de células grandes tienen observarse un patrón difuso formado por masas o nidos de células grandes sin el patrón nodular del LZM. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. van den Brand M, van Krieken JH. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica*. 2013 Jul;98(7):1003-13.
2. Angelopoulou MK, Kalpadakis C, Pangalis GA, Kyrtsonis MC, Vassilakopoulos TP. Nodal marginal zone lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2013 Nov 12.
3. Dreyling M, Thieblemont C, Gallamini A, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol*, 2013; 24: 857–87
4. Traverse-Glehen A, Bertoni F, Thieblemont C, Zucca E, Coiffier B, Berger F, Salles G. Nodal marginal zone B-cell lymphoma: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Oncology (Williston Park)*. 2012 Jan;26(1):92-9, 103-4. Review
5. Kanellis G, Roncador G, Arribas A, Mollejo M, Montes-Moreno S, Maestre L, Campos-Martin Y, Ríos Gonzalez JL, Martínez-Torrecedrada JL, Sanchez-Verde L, Pajares R, Cigudosa JC, Martin MC, Piris MA Identification of MNDA as a new marker for nodal marginal zone lymphoma. *Leukemia*. 2009 23(10):1847-57. PMID: 19474799
6. Mollejo M, Camacho FI, Algara P, Ruiz-Ballesteros E, García JF, Piris MA. Nodal and splenic marginal zone B cell lymphomas. *Hematol Oncol*. 2005 Sep-Dec;23(3-4):108-18. Review.
7. FI Camacho, P Algara, M Mollejo, JF García, C Montalbán, N Martínez, M Sánchez-Beato, MA Piris. Nodal marginal zone lymphoma: a heterogeneous tumor. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 762-771.

LINFOMA LINFOPLASMATICO

Autor para la correspondencia: Manuela Mollejo (mmollejov@sescam.jccm.es).

1. DEFINICIÓN

El linfoma linfoplasmático (LPL) es una neoplasia de células B maduras formada por linfocitos pequeños, plasmáticas y linfocitos plasmocitoides que no cumplen los criterios de otros linfomas B de células pequeñas, que pueden presentar diferenciación plasmacítica. Afecta médula ósea, bazo y menos frecuentemente ganglio linfático. Es frecuente la presencia de paraproteína, generalmente IgM. Cuando se produce la asociación entre infiltración de médula ósea y producción de componente monoclonal IgM, independientemente de su

cantidad y de que haya o no sintomatología estamos ante una Macroglobulinemia de Waldenstrom (MW). (Owen et al, 2003; Swerdlow et al, 2008) Anemia, trombopenia, leucopenia puede observarse por infiltración medular y raramente por hiperesplenismo. Otros síntomas-signos que se pueden detectar en estos pacientes, en parte relacionados con la paraproteína sérica son la neuropatía, organomegalias, visceromegalias, citopenias, amiloidosis y crioglobulinemia. Hay casos asociados al virus de la hepatitis C.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico se establece más frecuentemente en sangre periférica y biopsia de médula ósea y/o en ganglio linfático.

Sangre periférica: Frecuentemente muestra rouleaux. Se observan linfocitos pequeños, linfoplasmocitoides y células plasmáticas.

Biopsia médula ósea: La biopsia de médula ósea es obligatoria para el diagnóstico. Muestra un infiltrado intersticial y/o nodular por linfocitos pequeños, células linfoplasmocitoides y plasmáticas. Se pueden observar cuerpos de Russell (inclusiones citoplasmáticas de Ig, PAS positivas), o cuerpos de Dutcher (inclusiones nucleares). Se pueden observar aislados blastos, pero no centros de proliferación. Se ven frecuentes mastocitos. No se suele ver ni la infiltración intrasinusoidal, como en linfomas esplénicos de la zona marginal, ni centros germinales residuales. En el aspirado medular se pueden observar signos similares, pero sólo la observación de la arquitectura ósea permite descartar o confirmar la existencia o no de infiltración linfoplasmocítica. Ni la CMF ni los estudios moleculares están aún aceptados para determinar el diagnóstico definitivo.

Ganglio linfático: Proliferación linfoide con un patrón vagamente nodular, con centros germinales residuales, y formada por el mismo tipo celular que en médula ósea y sangre periférica. No es raro observar histiocitos epitelioides,

Bazo: Es muy raro que se realice el diagnóstico en el bazo. Presenta un infiltrado con las mismas características que en el resto de los órganos, y localizado preferentemente en la pulpa roja.

3. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El diagnóstico de LPL es un diagnóstico de exclusión, ya que otros linfomas B de células pequeñas pueden mostrar diferenciación plasmacítica, por tanto es necesario descartar otros linfomas antes de hacer el diagnóstico de LPL.

El diagnóstico que más dificultad plantea, por la ausencia de marcador específico es el linfoma de la zona marginal.

Por otro lado, el diagnóstico diferencial hay que establecerlo con las proliferaciones linfoplasmacíticas monoclonales asociadas/ o no al virus de la hepatitis C (gammapatía monoclonal de significado incierto IgM). No se conocen los factores de riesgo que determinan la progresión de linfocitosis linfoplasmacíticas monoclonales a evidentes linfomas.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUIMICA (IHQ) e HBRIDACION IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

Panel de primera línea CMF: CD20, CD22, CD138, CD23, CD5, CD25, CD103, Smlg, CD10

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, CD138, CD38, kappa, lambda, ciclina D1.

Paneles de segunda línea: CD56

5. CITOGENETICA Y MOLECULAR

La delección de 6q es frecuente (aprox. 30%), pero no tiene mucho impacto clínico y escaso en el diagnóstico diferencial (aunque menos frecuente, también se observa en otros síndromes linfoproliferativos).

La mutación L265P del gen MYD88 es muy frecuente en casos de MW (>90%) y MGUS (50-90%), aunque se ha descrito con muy escasa frecuencia en el resto de los LPL. Esta mutación es de gran utilidad para el diagnóstico diferencial, ya que no está presente en otras neoplasias linfoides, salvo en un 15-20% de los linfomas difusos de célula grande (especialmente de tipo no centro germinal), el 20% de los linfo-

mas B de la zona marginal esplénico y en apenas un 2% de las leucemias linfoides crónicas. Las mutaciones del gen CXCR4 se detectan en un 25-30% de los casos de MW, y aún no han sido descritas en otras neoplasias linfoides.

En ocasiones puede ser necesario realizar FISH para t(11;14) y t(14;18) para excluir linfoma del manto y linfoma folicular respectivamente, que nunca aparecen en el LPL.

RECOMENDACIONES

1. Cuando no se pueda establecer un diagnóstico preciso de LPL, se aconseja diagnosticarlo de linfoma B de células pequeñas con diferenciación linfoplasmocítica y establecer posibles diagnósticos diferenciales. Grado C. Evidencia nivel IV
2. La detección de la mutación MYD88/L265P se ha demostrado de utilidad en el diagnóstico diferencial de procesos linfoproliferativos B de bajo grado en muestras de MO, de modo que su presencia apoya el diagnóstico de LPL y MW. Grado B, nivel de evidencia III
3. El diagnóstico de MW requiere la identificación de un componente monoclonal IgM en suero, junto con la evidencia de infiltración medular por examen convencional de la biopsia ósea de una población de células con diferenciación linfoplasmocitoide. La expresión sIgM, CD20, CD19, CD25 y CD22 débil con ausencia de CD5, CD23 y CD10 es altamente sugerente de LPL/MW. No obstante, la presencia de alguno de los marcadores negativos o la ausencia de alguno de los positivos no confirma o excluye completamente el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
4. La presencia de componente monoclonal IgM, en ausencia de infiltrado reconocible en la biopsia ósea y signos o síntomas clínicos marca el diagnóstico de Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto tipo IgM. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Jiménez C; Sebastián E; Del Carmen Chillón M; Giraldo P; Mariano Hernández J; Escalante F; González-López TJ; Aguilera C; de Coca AG; Murillo I; Alcoceba M; Balanzategui A; Eugenia Sarasquete M; Corral R; Marín LA; Paiva B; Ocio EM; Gutiérrez NC; González M; San Miguel JF; García-Sanz R. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenström's macroglobulinemia. *Leukemia*. 2013; 27:1722-8. .
2. Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, et al. Clinicopathological definition of Waldenstrom's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenstrom's Macroglobulinemia. *Semin Oncol*. 2003; 30(2):110-115.
3. Gachard, N., M. Parrens, I. Soubeyran, B. Petit, A. Marfak, D. Rizzo, M. Devesa, M. Delage-Corre, V. Coste, M. P. Laforet, A. de Mascarel, J. P. Merlio, K. Bouabdhalia, N. Milpied, P. Soubeyran, A. Schmitt, D. Bordessoule, M. Cogne and J. Feuillard (2013). "IGHV gene features and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenstrom macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas." *Leukemia* 27(1): 183-189.
4. Mollejo, M., J. Menárguez, P. Guisado-Vasco, L. Bento, P. Algara, S. Montes-Moreno, M. S. Rodriguez-Pinilla, M. A. Cruz, F. Casado, C. Montalbán and M. A. Piris (2014). "Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders encompass a broader clinical and morphological spectrum than previously recognized: a clinicopathological study." *Mod Pathol* 27(2): 281-293.
5. Ondrejka, S. L., J. J. Lin, D. W. Warden, L. Durkin, J. R. Cook and E. D. Hsi (2013). "MYD88 L265P somatic mutation: its usefulness in the differential diagnosis of bone marrow involvement by B-cell lymphoproliferative disorders." *Am J Clin Pathol* 140(3): 387-394.

6. Swerdlow SH CE, H. N., Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. (2008). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.
7. Varettoni, M., L. Arcaini, S. Zibellini, E. Boveri, S. Rattotti, R. Riboni, A. Corso, E. Orlandi, M. Bonfichi, M. Gotti, C. Pascutto, S. Mangiacavalli, G. Croci, V. Fiaccadori, L. Morello, M. L. Guerrero, M. Paulli and M. Cazzola (2013). "Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms." Blood 121(13): 2522-2528.

OTROS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS (HCL, LINFOMAS B ESPLENICOS INCLASIFICABLES)

Autor para la correspondencia: *Manuela Mollejo* (mmollejev@sescam.jccm.es).

LEUCEMIA DE CELULAS PELUDAS

1. DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

La leucemia de células peludas (LCP) es un proceso linfoproliferativo caracterizado por esplenomegalia, infiltración de médula ósea y presencia en sangre periférica y aspirados de médula ósea de células con prolongaciones citoplasmáticas "peludas". Los pacientes presentan síntomas por pancitopenia, esplenomegalia o infecciones.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico se establece normalmente en muestra de sangre periférica y médula ósea.

Sangre periférica: Se puede observar macrocitosis, pancitopenia, y monocitopenia. Las células peludas tienen núcleos de mediano tamaño y citoplasmas amplios con prolongaciones. No muestran nucléolo prominente.

Biopsia médula ósea: Típicamente los aspirados son secos por la fibrosis en la médula, siendo la biopsia de la médula una localización típica para el diagnóstico. El grado de infiltración es variable, desde un infiltrado intersticial con conservación de la arquitectura y del tejido adiposo hasta una infiltración difusa con borramiento de la arquitectura normal, por una proliferación de linfocitos de pequeño-mediano tamaño con citoplasmas amplios y claros. La infiltración de la médula por LCP no suele formar nódulos como ocurre en la infiltración de la médula por otros linfomas.

Bazo: Se observa una infiltración difusa en la pulpa roja por una proliferación de linfocitos con citoplasmas claros y núcleos ovoideos. La pulpa blanca suele ser atrófica. Es frecuente observar lagos venosos.

Ganglio linfático: No suelen estar infiltrados y raramente se reciben para diagnóstico. El grado de infiltración es variable, y la morfología de las células es similar a la descrita en bazo

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El DD se establece principalmente con la LCP variante, el LEZM y el linfoma esplénico difuso de la pulpa roja.

El patrón de infiltración de la médula ósea más frecuente es intersticial, respetando la arquitectura, requiriendo en esas circunstancias la realización de técnicas de inmunohistoquímica para el diagnóstico (CD20).

4. PANELES DE IHQ

Las células de la LCP expresan TRAP, a diferencia de los otros procesos linfoproliferativos con los que se plantea DD.

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20/CD22, CD200, CD11c, CD25, CD103, CD123, k/I.

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, Anexina1, BRAFV600E (clon VE1).

Panel de segunda línea: IgD, DBA44, ciclina D1,

5. CITOGENETICA/MOLECULAR

Se ha descrito la presencia de la mutación V600E en más del 88% de los casos de LCP. Esta mutación es un marcador diagnóstico en la LCP y un potencial marcador de selección de terapia dirigida.

RECOMENDACIONES.

1. El estudio de sangre periférica y médula ósea son las localizaciones donde se realiza normalmente el diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
2. CD11c, CD25, CD103, CD123 son recomendados cuando se sospecha LCP. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, Anexina1, BRAFV600E (clon VE1). Grado C. Evidencia nivel IV
4. El estudio de la presencia de la mutación por estudio molecular de BRAF es recomendable aunque no imprescindible en el momento actual para el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV
5. La morfología de las células con citoplasmas amplios y claros hace sospechar el diagnóstico de LCP. Grado C. Evidencia nivel IV
6. Las prolongaciones citoplasmáticas se observan en los extendidos de sangre periférica, pero no en los realizados de médula ni de bazo. Grado C. Evidencia nivel IV
7. La fuerte expresión de TRAP es casi exclusiva de la LCP. Grado C. Evidencia nivel IV
8. En relación a la valoración de la expresión de Anexina 1 en la médula ósea hay que tener en cuenta que también marca células mieloides y algunos linfocitos T, pero no se ha descrito en otros linfomas B. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Shao H, Calvo KR, Grönborg M, Tembhare PR, Kreitman RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: development and validation of diagnostic criteria. *Leuk Res.* 2013
2. Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B, Else M, Catovsky D; British Committee for Standards in Haematology. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant*. *Br J Haematol.* 2012 Jan;156(2):186-95.
3. Summers TA, Jaffe ES. Hairy cell leukemia diagnostic criteria and differential diagnosis. *Leuk Lymphoma.* 2011 Jun;52 Suppl 2:6-10.

LINFOMA B ESPLÉNICO DE CELULAS PEQUEÑAS, DIFUSO DE LA PULPA ROJA.

1. DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

El linfoma B de células pequeñas esplénico difuso de la pulpa roja (LEDPR) es una entidad provisional incluida en la última edición de la clasificación de linfomas de la OMS. Es un linfoma que afecta médula ósea, sangre periférica y bazo. Es un linfoma muy poco frecuente, representa menos del 10% de los linfomas B diagnosticados en el bazo. Se caracteriza por una infiltración de la pulpa roja por una población monótona de linfocitos pequeños B.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

Como el propio nombre indica, el diagnóstico estándar requiere el examen del bazo, pero por las características de la infiltración de la médula y en sangre periférica se puede sugerir el diagnóstico.

Sangre periférica: Se observa una población linfoide homogénea de linfocitos de pequeño-mediano tamaño, con núcleos redondo u oval y citoplasmas basófilos con prolongaciones “vellosas”. Los nucléolos no son prominentes. Se observan células linfoplasmocitoides y ocasionalmente linfocitos grandes con nucléolos prominentes en casos de progresión/transformación

Médula ósea: Típicamente se observa una infiltración intrasinusoidal, acompañada con un infiltrado intersticial y/o nodular de variable intensidad.

Bazo: Morfológicamente el bazo muestra una infiltración difusa en la pulpa roja, a nivel sinusoidal y cordonal, de linfocitos pequeños. La pulpa blanca suele estar atrófica.

3. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece básicamente con el LEZM, LCP y con la LCP variante.

La infiltración de la médula y de la sangre periférica puede ser semejante al LEZM. Sin embargo, el examen del bazo es diferente, no observándose ni citología bifásica, ni diferenciación marginal ni reemplazamiento folicular.

El diagnóstico diferencial con la LCP se basa en la morfología (diferente patrón de prolongaciones vellosas, ausencia de fibrosis en médula), fenotipo (ausencia de anexina1, CD25, TRAP en el difuso) y molecular (ausencia de mutaciones de BRAF).

El diagnóstico diferencial con la LCP variante se basa básicamente en la ausencia de nucléolo en el LEDPR y menor grado de linfocitosis. En cualquier caso, hay cierto solapamiento entre ambas entidades.

4. PANELES DE IHQ

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20/CD22, CD200, CD11c, CD25, CD103, CD123, k/l.

Panel primera línea IHQ: CD20, CD3, IgG, ciclina D1.

Panel de segunda línea IHQ: Anexina 1, IgD, BRAFV600E (clonVE1).

5. CITOGENETICA/MOLECULAR

No hay alteraciones citogenéticas ni moleculares propias de este tumor.

Se ha descrito alteraciones de TP53 con aumento de la expresión proteica en un xx 5. A diferencia del LEZM, solo es ocasional la presencia de del7q.

RECOMENDACIONES.

1. **En caso de duda de diagnóstico, es preferible denominarlo linfoma esplénico B, no clasificable. Grado C. Evidencia nivel IV**

REFERENCIAS

1. Ponzoni M, Kanellis G, Pouliou E, Baliakas P, Scarfò L, Ferreri AJ, Doglioni C, Bikos V, Dagklis A, Anagnostopoulos A, Ghia P, Stamatopoulos K, Papadaki T. Bone marrow histopathology in the diagnostic evaluation of splenic marginal-zone and splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: a reliable substitute for spleen histopathology? *Am J Surg Pathol.* 2012 Nov;36(11):1609-18
2. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Salles G, Coiffier B, Felman P, Berger F. Splenic diffuse red pulp small-B cell lymphoma: toward the emergence of a new lymphoma entity. *Discov Med.* 2012 Apr;13(71):253-65. Review.
3. Kanellis G, Mollejo M, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla SM, Cigudosa JC, Algara P, Montalban C, Matutes E, Wotherspoon A, Piris MA. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: revision of a series of cases reveals characteristic clinico-pathological features. *Haematologica.* 2010 Jul;95(7)

4. Traverse-Glehen A, Baseggio L, Bauchu EC, Morel D, Gazzo S, Ffrench M, Verney A, Rolland D, Thieblemont C, Magaud JP, Salles G, Coiffier B, Berger F, Felman P. Splenic red pulp lymphoma with numerous basophilic villous lymphocytes: a distinct clinicopathologic and molecular entity? *Blood*. 2008
5. Mollejo M, Algara P, Mateo MS, Sánchez-Beato M, Lloret E, Medina MT, Piris MA. Splenic small B-cell lymphoma with predominant red pulp involvement: a diffuse variant of splenic marginal zone lymphoma? *Histopathology*. 2002 Jan;40(1):22-30.

LEUCEMIA DE CELULAS PELUDAS, VARIANTE.

1. DEFINICION Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

La Leucemia de células peludas variante (LCPv) es una proliferación linfoide B que recuerda a la LCP pero que difiere en que muestra células con prominente nucléolo (variante prolinfocítica de LCP), son CD25-, TRAP -, anexina 1- y no responden a la terapia habitual de la LCP con cladribina. A pesar del nombre, ambas entidades no están relacionadas biológicamente. Está incluida en la OMS como una entidad provisional.

Es un proceso linfoproliferativo muy poco frecuente, que afecta sangre periférica, médula ósea y bazo. Suele presentar leucocitosis.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNOSTICO

El diagnóstico se realiza en sangre periférica.

Sangre periférica: La mayoría de las células son grandes, con prolongaciones, y nucléolos prominentes, que semejan prolinfocitos. El fenotipo por CMF es CD25-, CD103-, CD11c+, CD123 + (40%), con un score CLL de 0-1.

Médula ósea: El infiltrado de la médula ósea es intersticial e intrasinusoidal, requiriendo la realización de inmunohistoquímica (CD20) para su diagnóstico.

Bazo: El patrón de infiltración es en la pulpa roja, con atrofia de la pulpa blanca.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El diagnóstico diferencial se establece con la LCP, LEDPR y LEZM.

A diferencia de la LCP los aspirados de la médula ósea no son secos por la ausencia de fibrosis reticulínica

4. PANELES DE IHQ

Marcadores positivos son DBA44, CD11c, Inmunoglobulinas de superficie (frecuentemente IgG), CD103 y FMC7.

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20/CD22, CD200, CD11c, CD25, CD103, CD123, k/l.

Panel de primera línea IHQ: CD20, CD3, Anexina1, BRAFV600E

Panel de segunda línea IHQ: IgD, IgG, DBA44

5. CITOGENÉTICA/MOLECULAR

No se conocen alteraciones citogenéticas/moleculares específicas de este tumor. Se ha descrito alteraciones de TP53.

RECOMENDACIONES.

1. Es una enfermedad excepcional, que a pesar del nombre, no está relacionada con la leucemia de células peludas. La presencia de nucléolo prominente es un rasgo prioritario en esta entidad. Aunque en algunos casos sean nucléolos pequeños, se observan en todos los casos. Grado C. Evidencia nivel IV

2. Para su diagnóstico es preciso demostrar un fenotipo atípico para LCP. Grado B, nivel de evidencia III.
3. Es necesario realizar estudio IHQ con Anexina 1 y BRAFV600E para descartar una LCP clásica. Grado B, nivel de evidencia III

REFERENCIAS

1. Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B, Else M, Catovsky D; British Committee for Standards in Haematology. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant*. Br J Haematol. 2012 Jan;156(2):186-95
2. Hockley SL, Else M, Morilla A, Wotherspoon A, Dearden C, Catovsky D, Gonzalez D, Matutes E. The prognostic impact of clinical and molecular features in hairy cell leukaemia variant and splenic marginal zone lymphoma. Br J Haematol. 2012 Aug;158(3):347-54.
3. Shao H, Calvo KR, Grönborg M, Tembhare PR, Kreitman RJ, Stetler-Stevenson M, Yuan CM. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: development and validation of diagnostic criteria. Leuk Res. 2013 Apr;37(4):401-9

2b. LINFOMAS NO HODGKIN, LINFOMAS B AGRESIVOS.

Autor para la correspondencia: *Santiago Montes Moreno* (smontes@humv.es)

LINFOMA DE BURKITT

1. DEFINICIÓN:

El linfoma de Burkitt (LB) es un linfoma B compuesto de células de tamaño mediano, monomorfo que se suele presentar en localizaciones extraganglionares y pacientes en edad pediátrica (30-50% de los linfomas de la infancia, 1-2% de los linfomas en nuestro medio(1)) y jóvenes o inmunodeprimidos. Este tipo de neoplasia se caracteriza molecularmente por traslocaciones aisladas de *MYC* (habitualmente con *IGH* o cadenas ligeras, *IGL* (22q11) o *IGK* (2p12)) que constituye un requisito para el diagnóstico (1).

El LB es una enfermedad potencialmente curable, especialmente las formas endémicas y esporádicas. Después del tratamiento con quimioterapia de combinación intensiva a altas dosis las tasas de curación alcanzan el 80-90% incluso en pacientes con enfermedad diseminada. Son marcadores de mal pronóstico la afectación del SNC y MO, masas >10 cm no resecables y LDH sérica muy elevada(1).

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA ESTABLECER EL DIAGNÓSTICO

- **Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto:** Es el método de elección.
- **Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

TIPO DE ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACION

Análisis de LCR: Debe de realizarse siempre. El SNC se encuentra afecto por LB en aproximadamente un 20% de los casos de LB. El diagnóstico en LCR requiere excluir contaminación por SP y la demostración por CMF de una población B clonal(2).

Biopsia-cilindro y aspirado de médula ósea: Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LB. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro además de estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de LB plantean el diagnóstico diferencial con neoplasias hematolinfoides y no linfoides, especialmente en edades pediátricas (Sarcoma de Ewing, por ejemplo). Entre las neoplasias hematolinfoides es esencial establecer el diagnóstico diferencial con leucemia/linfoma linfoblástico de precursores B o T, leucemia mieloide aguda indiferenciada o mínimamente diferenciada, linfoma B de células del manto (variante blastoide), linfoma B inclasificable con rasgos intermedios entre LB y LBDCG y Linfoma B Difuso de Células grandes con reordenamientos de *MYC*.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HBRIDACIÓN IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

El linfoma de Burkitt se caracteriza por mostrar un fenotipo B con expresión uniforme de marcadores de fenotipo centro germinal como CD10 y BCL6. Se observa expresión de IgM de superficie y negatividad para BCL2 y TdT. El índice proliferativo es virtualmente del 100% pero las condiciones de procesamiento de tejido pueden artefactar la cuantificación de la expresión de este marcador(2). La sobreexpresión de C-MYC en un porcentaje significativo de la celularidad tumoral es la norma en LB y se asocia con la presencia de traslocaciones del gen, tanto en LB como en LBDCG(4, 5). Así, la sobreexpresión de c-Myc en más del 70% de la celularidad neoplásica tiene una sensibilidad y valor predictivo negativo del 100% y una especificidad del 93% con valor predictivo positivo del 85% en relación con la presencia de traslocaciones de *MYC* en linfomas B agresivos(4).

Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC.

Panel de primera línea CMF: CD45 (ALC), CD34, CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, kappa, lambda(3).

Panel de segunda línea: HIS para EBV-EBER.

5. 5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

La detección de reordenamientos de *MYC* mediante FISH con sondas de tipo BA es de elección para el diagnóstico de LB. En casos negativos para este gen mediante sondas BA se recomienda realizar DF FISH para detectar el reordenamiento(2). Existe no obstante un porcentaje de casos (<10%) de LB típico en los que no se detecta reordenamiento de *MYC* mediante FISH(1).

El estudio de traslocaciones de *BCL2* y *BCL6* debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de Burkitt del adulto. La ausencia de reordenamientos de *BCL2* y *BCL6* es un requisito para el diagnóstico de LB. También debe realizarse FISH de *BCL2* y *BCL6* en los pacientes con histologías y/o fenotipos atípicos, incluso en edad pediátrica, tales como aquellos que presentan expresión inmunohistoquímica de BCL2. En estos casos se requiere la demostración de un reordenamiento aislado de *MYC*, sin que simultáneamente presenten reordenamiento de *BCL2* o *BCL6*, para el diagnóstico de LB.

El estudio de cariotipo debe intentar realizarse siempre que exista muestra suficiente, especialmente en aquellos casos con histologías dudosas. Los cariotipos en el LB suelen ser no complejos. En el 40% de los casos la traslocación *IG-MYC* es la única anomalía citogenética. En el resto de los casos se detectan anomalías adicionales siendo las más frecuentes las ganancias del 1q, 7q y pérdidas del 6q,13q32-34 y 17p. Cariotipos complejos deben hacernos dudar del diagnóstico de LB. Se ha descrito un perfil molecular del linfoma de Burkitt basado en análisis de la expresión génica(6, 7). El linfoma de Burkitt molecular se caracteriza por sobreexpresión de genes relacionados con c-Myc y cariotipos simples con translocaciones de *MYC* como única anomalía citogenética. La correlación del perfil molecular con la morfología es baja y actualmente no se aplica para diagnóstico rutinario. Recientemente se han descrito mutaciones somáticas en *MYC*, *ID3*, *GNA13*, *RET*, *PIK3R1*, *ARID1A* y *SMARCA4* entre otros(8). La presencia de mutaciones en *ID3* (en el 34% de los casos) no se encuentra en casos de DLBCL. No

obstante la utilidad de estos marcadores para el diagnóstico, pronóstico o selección de terapia está por determinar.

RECOMENDACIONES

1. En todos los pacientes debe hacerse biopsia/aspirado de médula ósea y estudio del LCR para estadiaje. Grado B, nivel de evidencia III
2. Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, c-Myc. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Panel de primera línea CMF: CD45 (ALC), CD34, CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, kappa, lambda. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Panel de segunda línea: HIS para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV
5. La detección de reordenamientos de MYC mediante FISH con sondas de tipo BA es de elección para el diagnóstico de LB. En casos negativos se recomienda realizar el estudio de reordenamiento IGH-MYC con sondas DF FISH para detectar el reordenamiento. Grado C. Evidencia nivel IV
6. El estudio de traslocaciones de BCL2 y BCL6 debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de Burkitt del adulto y casos con hallazgos histopatológicos y fenotípicos atípicos. Grado C. Evidencia nivel IV
7. Se requiere la demostración de un reordenamiento aislado de MYC, sin que simultáneamente presenten reordenamiento de BCL2 o BCL6, para el diagnóstico de LB. Grado C. Evidencia nivel IV
8. El estudio de cariotipo puede ser útil para el diagnóstico diferencial del LB y ocasionalmente para identificar reordenamientos no detectados por FISH. Los cariotipos complejos deben hacernos dudar del diagnóstico de LB. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Parker A, BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
3. NCCN. NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas. v 1.2013 ed, 2013.
4. Green TM, Nielsen O, de Stricker K, Xu-Monette ZY, Young KH, Moller MB. High levels of nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 2012 Apr;36(4):612-9.
5. Ruzinova MB, Caron T, Rodig SJ. Altered subcellular localization of c-Myc protein identifies aggressive B-cell lymphomas harboring a c-MYC translocation. *Am J Surg Pathol.* 2010 Jun;34(6):882-91.
6. Dave SS, Fu K, Wright GW, Lam LT, Kluin P, Boerma EJ, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med.* 2006 Jun;354(23):2431-42.
7. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med.* 2006 Jun;354(23):2419-30.
8. Love C, Sun Z, Jima D, Li G, Zhang J, Miles R, et al. The genetic landscape of mutations in Burkitt lymphoma. *Nat Genet.* 2012 Dec;44(12):1321-5.

LINFOMA B DIFUSO DE CELULA GRANDE.

1. DEFINICIÓN:

El linfoma B difuso de células grandes es una neoplasia de células linfoides B de tamaño grande (núcleo igual o mayor que el de un macrófago o tamaño superior al doble de un linfocito normal) que tiene un patrón de crecimiento puramente difuso en las secciones histopatológicas(1). Existen una serie de variantes morfológicas, moleculares y fenotípicas así como entidades específicas compuestas de células B grandes. En este apartado se trata del LBDCG NOS de forma general con anotaciones específicas para los subtipos/entidades de LBDCG.

El LBDCG NOS constituye del 25-30% de los linfomas B no Hodgkin en el mundo occidental. Es más frecuente en pacientes añosos pero puede aparecer a cualquier edad(1). Algunas formas pediátricas(2) y la asociadas a edad avanzada(3) e infección por EBV(1, 4, 5) tienen rasgos clínicopatológicos y moleculares característicos.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección.

Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): Es la aproximación que se debe utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

3. TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACION

Biopsia-cilindro de médula ósea: Estudio requerido para la estadificación de todos los casos de LBDCG. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro. La médula ósea puede estar infiltrada de forma concordante (morfología de linfoma B difuso de células grandes), discordante (afectación por linfoma B de células pequeñas) o no infiltrada. El significado pronóstico de la infiltración discordante es limitado(8, 9) y en una minoría de casos representa una situación de linfoma B indolente en progresión a Linfoma B de células grandes(6).

4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de LBDCG plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos neoplásicos no linfoides y linfoides (Linfoma de Hodgkin y Linfoma T periférico, principalmente). La aproximación diagnóstica inicial debe incluir un estudio morfológico con hematoxilina –eosina (HE) y un panel básico con marcadores de línea linfoide (CD45, ALC), B (CD20) y T (CD3). Una vez determinada la naturaleza linfoide B del infiltrado de células grandes el diagnóstico diferencial debe tener en cuenta:

- Linfoma B de células del manto (variante pleomórfica).
- Linfoma B de células de Burkitt y Linfoma B con rasgos intermedios entre linfoma de Burkitt y Linfoma B Difuso de Células grandes.
- Linfomas B con rasgos intermedios entre Linfoma de Hodgkin y Linfoma B Difuso de Células grandes.
- Subtipos específicos de linfomas B de células grandes: Linfoma B rico en células T e histiocitos, Linfoma B de células grandes EBV positivo asociado a edad avanzada, Linfoma B difuso primario cerebral, Linfoma B Difuso primariamente cutáneo (tipo piernas), Linfoma B difuso primario mediastínico, Linfoma plasmablastico, Linfoma B ALK positivo, Linfoma B asociado de enfermedad de castleman multicéntrica HHV-8 positiva, Linfoma B primario de cavidades, granulomatosis linfomatoide, linfoma B difuso asociado con inflamación crónica.

Este diagnóstico diferencial debe tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (localización de las lesiones) y del paciente (edad), así como rasgos morfológicos específicos de la neoplasia (morfología Hodgkin-like, morfología plasmablastica) e inmunofenotípicos.

5. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HBRIDACIÓN IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

Se reconocen al menos dos variantes moleculares de LBDCG NOS, el subtipo centro germinal (GCB) y el subtipo activado (ABC). Estas variantes moleculares se definen en función del perfil de expresión génica determinada mediante análisis de expresión de ARNm, de modo que la mayoría de las series publicadas asignan un porcentaje de casos al tipo ABC entre el 46 y 48%(2, 10, 11). Se han desarrollado varios algoritmos inmunohistoquímicos que son subrogados imperfectos del perfil de expresión génica con tasas de concordancia variables en torno al 90%(10-12). Ya que la IHQ es un método factible para la subclasificación de estos casos y hay datos que sugieren que el fenotipo noGCB/ABC pudiera ser útil en un futuro de tratamientos actualmente no estándar se recomienda incluir, al menos, el fenotipado según el algoritmo de Hans en los casos de LBDCG(12). Es preciso incluir en el informe el porcentaje estimado de células positivas para cada marcador analizado. Adicionalmente hay evidencia de que la coexpresión mediante inmunohistoquímica de C-MYC y BCL2 en casos de LBDCG (C-MYC \geq 40%, BCL2 \geq 70%) identifica un subgrupo de LBDCG de conducta clínica especialmente agresiva(13-15). Se recomienda incluir la determinación de la expresión de C-MYC y BCL2, identificando el porcentaje estimado de células positivas. Asimismo, la expresión de CD30 en casos de LBDCG se asocia con rasgos clinicopatológicos y moleculares específicos(16). La potencial disponibilidad de terapias específicas frente esta molécula hace aconsejable identificar la positividad y el porcentaje estimado de células positivas para CD30 en cada caso de LBDCG.

En cualquier caso, este tipo de subdivisiones pronósticas independientes del índice IPI no tienen hoy mucha aplicabilidad clínica fuera de los ensayos clínicos, ya que no se utilizan estrategias terapéuticas diferentes para los distintos subgrupos de pacientes.

Existe un conjunto de subtipos de linfomas B de células grandes con morfología inmunoblástica y plasmablástica que se asocian con rasgos clinicopatológicos distintivos. Para su identificación precisa se requiere un panel que permita la identificación de un fenotipo específico (pérdida de marcadores de línea B y adquisición de marcadores de diferenciación terminal) asociado con marcadores propios de las diferentes entidades (EBV-EBER y C-MYC en el caso de linfomas plasmablásticos, HHV-8 en el caso de linfomas de cavidades, por ejemplo). Se recomienda el uso de un panel específico de segunda línea en estos casos para subclasificar adecuadamente la neoplasia.

Algunas entidades específicas incluyen en su definición la demostración de la presencia de EBV en las células neoplásicas. Entre estas se encuentran además de los ya citados, los casos de Linfoma B Difuso de Células Grandes asociado a EBV y edad avanzada, los casos de granulomatosis linfomatoide y casos de desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LBDCG. En estos casos la demostración de EBV-EBER mediante ISH-C es un requisito para el diagnóstico. En su defecto una inmunotinción positiva para EBV-LMP1 es un subrogado adecuado. La negatividad para EBV-LMP1 no descarta la presencia de EBV, siendo la ISH EBV-EBER la técnica de sensibilidad óptima en tejido adecuadamente fijado.

Panel de primera línea: CD45 (ALC), CD20, CD3. En caso de terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores de línea B como PAX5, OCT2, CD79.

Paneles de segunda línea:

- Necesario en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD10, BCL6, MUM1, BCL2, C-MYC, Ki67, ciclinaD1.
- Aconsejable en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD30.
- Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1).
- Necesario en casos con edad avanzada (>50 años), granulomatosis linfomatoide y desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LBDCG: EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1).

6. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

El estudio de FISH para la detección de reordenamientos de *MYC*, *BCL2* y *BCL6* utilizando sondas de tipo BA es de utilidad para identificar casos con alteraciones citogenéticas múltiples asociadas con mal pronóstico clínico y potenciales candidatos a terapias no estándar(17). La presencia de traslocaciones en estos genes,

particularmente en *MYC* y *BCL2* se asocia estrechamente con la sobreexpresión de la proteína en porcentajes significativos de la celularidad neoplásica(13, 14, 18). Se sugiere, basándose en esta evidencia, testar para FISH de *MYC* y *BCL2* aquellos casos con sobreexpresión de *MYC* en, al menos, el 50% de la población neoplásica. Si se encuentra *MYC* reordenado, con o sin reordenamiento de *BCL2* mediante FISH, es de utilidad identificar el posible reordenamiento de *BCL6*(19).

Cerca de un 2% de los casos de LBDCG sobreexpresan ciclinaD1 mediante IHQ(20). Si se observa la sobreexpresión homogénea e intensa de ciclinaD1 mediante IHQ es necesario realizar FISH de *CCND1* para descartar una forma pleomórfica de LCM.

La presencia de traslocaciones de *MYC* y *ALK* está descrita en algunos subtipos de linfoma B de células grandes de morfología inmunoblástica/plasmablástica(21, 22). La demostración de estas alteraciones mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico.

Se ha descrito un subgrupo de Linfomas B de fenotipo centrogerminal (LBDCG y LF) con traslocaciones de *MUM1/IRF4*. Este subgrupo se encuentra en pacientes jóvenes y muestran una conducta clínica relativamente favorable(2). La demostración de estas alteraciones mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico. El estudio de cariotipo no es necesario, aunque si existe muestra suficiente es recomendable, ya que puede resultar de utilidad para identificar nuevos reordenamientos no conocidos, anomalías secundarias, potenciales dianas terapéuticas y en el diagnóstico diferencial por ejemplo con linfomas de características intermedias, en los que los cariotipos son muy complejos a diferencia de los cariotipos del linfoma de Burkitt.

Análisis de clonalidad linfoide (reordenamientos de Ig) mediante PCR y electroforesis capilar.

En contadas ocasiones (abundancia de necrosis, mala calidad de la muestra, aberraciones inmunofenotípicas inesperadas) puede ser necesaria la ayuda de un estudio molecular que confirme la clonalidad B de la muestra. Para ello, la técnica recomendada es la amplificación de la región variable de los genes de las inmunoglobulinas y su estudio por análisis del tamaño de los fragmentos o su secuenciación(23, 24). Este estudio es siempre complementario al estudio morfológico e inmunohistoquímico de la muestra, y nunca debe utilizarse en solitario para asignar un diagnóstico.

RECOMENDACIONES

1. **Panel de primera línea: CD45 (ALC), CD20, CD3. En caso de terapia previa con antiCD20 es útil el uso de otros marcadores de línea B como PAX5, OCT2, CD79. Grado C. Evidencia nivel IV**
2. **Paneles de segunda línea: Necesario en casos con el probable diagnóstico de LBDCG NOS: CD10, BCL6, MUM1, BCL2, C-MYC, Ki67, CD30, ciclinaD1. Grado C. Evidencia nivel IV**
3. **Se recomienda incluir en el diagnóstico la subclasificación en GCB-ABC según el algoritmo de Hans, especificando en el informe el porcentaje de células positivas para cada marcador evaluado. Grado C. Evidencia nivel IV**
4. **Se recomienda incluir la determinación de la expresión de C-MYC y BCL2, identificando el porcentaje estimado de células positivas para cada marcador. Grado C. Evidencia nivel IV**
5. **Se aconseja identificar la positividad y el porcentaje estimado de células positivas para CD30 en cada caso de LBDCG. Grado C. Evidencia nivel IV**
6. **Paneles de segunda línea: Necesario en casos con morfología inmunoblástica/plasmablástica: CD138, CD38, Ki67, C-MYC, HHV-8, ALK, EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). Grado C. Evidencia nivel IV**
7. **7. Paneles de segunda línea: Necesario en casos con edad avanzada (>50 años) , granulomatosis linfomatoide y desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LBDCG: EBV-EBER (en su defecto EBV-LMP1). Grado C. Evidencia nivel IV**
8. **FISH de MYC y BCL2 aquellos casos con sobreexpresión de C-MYC en, al menos, el 50% de la población neoplásica. Si se encuentra MYC reordenado mediante FISH es de utilidad identificar el posible reordenamiento de BCL6. Grado C. Evidencia nivel IV**

9. La presencia de un doble hit genético (reordenamientos concurrentes de IGH-BCL2/t(14;18) (q32;q21) y MYC(8q24) o BCL6 (3q27) y MYC se debe hacer constar en el informe anatomopatológico. Grado C. Evidencia nivel IV
10. Si se observa la sobreexpresión homogénea e intensa de ciclinaD1 mediante IHQ es necesario realizar FISH de CCND1 para descartar una forma pleomórfica de LCM. Grado C. Evidencia nivel IV
11. La demostración de alteraciones de MYC y ALK en casos de morfología inmunoblástica/plasmablastica mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no estrictamente necesaria para un diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
12. La demostración de traslocaciones de MUM1/IRF4 mediante sondas FISH de tipo BA es aconsejable pero no necesaria para un diagnóstico. Grado C. Evidencia nivel IV
13. El estudio de cariotipo no es necesario pero si recomendable en caso de existir muestra suficiente en el panel diagnóstico habitual del LBDCG. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Salaverria I, Philipp C, Oschlies I, Kohler CW, Kreuz M, Szczepanowski M, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood*. 2011 Jul 7;118(1):139-47.
3. Klapper W, Kreuz M, Kohler CW, Burkhardt B, Szczepanowski M, Salaverria I, et al. Patient age at diagnosis is associated with the molecular characteristics of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2012 Feb;119(8):1882-7.
4. Nakamura S, JE, Swerdlow SH. EBV positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Lyon*, 2008.
5. Santiago Montes-Moreno LO, Julio Alexander Diaz-Perez, Ana Batlle Lopez, Sonia Gonzalez de Villambrosía, Francisco Mazorra, Maria E. Castillo, Mar Lopez, Raquel Pajares, Juan F. García, Manuela Mollejo, Francisca I. Camacho, Carmen Ruiz-Marcellán, Magdalena Adrados, Nazario Ortiz, Renato Franco, Carlos Ortiz-Hidalgo, Ana Suarez-Gauthier, Ken H Young, Miguel A. Piris. EBV-positive Diffuse Large B Cell Lymphoma of the elderly is an aggressive post-germinal center B cell neoplasm characterized by prominent Nuclear Factor-kB activation.: *Modern Pathology*, 2012.
6. Parker A, BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*. 2012.
7. NCCN. *NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas*. v 1.2013 ed, 2013.
8. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruskova A, Berkahn L, et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 10;29(11):1452-7.
9. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, et al. Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1278-82.
10. Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, Miranda RN, Green TM, Li Y, et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular

- subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia*. 2012 Sep;26(9):2103-13.
11. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *J Clin Oncol*. 2011 Jan;29(2):200-7.
 12. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004 Jan;103(1):275-82.
 13. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, Green T, Wu L, Balasubramanyam A, et al. MYC/BCL2 protein co-expression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013 Feb.
 14. Green TM, Young KH, Visco C, Xu-Monette ZY, Orazi A, Go RS, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012 Oct;30(28):3460-7.
 15. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, Connors JM, Ben-Neriah S, Rogic S, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012 Oct;30(28):3452-9.
 16. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A, et al. CD30 expression defines a novel subset of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013 Jan.
 17. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood*. 2011 Feb;117(8):2319-31.
 18. Ruzinova MB, Caron T, Rodig SJ. Altered subcellular localization of c-Myc protein identifies aggressive B-cell lymphomas harboring a c-MYC translocation. *Am J Surg Pathol*. 2010 Jun;34(6):882-91.
 19. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2013 Mar;37(3):323-32.
 20. Ok CY, Li L, Xu-Monette Z, Visco C, Tzankov A, Manyam G, et al. Prevalence and Clinical Implications of Epstein-Barr Virus Infection in de novo Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Western Countries. *Clin Cancer Res*. 2014 Feb.
 21. Valera A, Balagué O, Colomo L, Martínez A, Delabie J, Tadesse-Heath L, et al. IG/MYC rearrangements are the main cytogenetic alteration in plasmablastic lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2010 Nov;34(11):1686-94.
 22. Valera A, Colomo L, Martínez A, de Jong D, Balague O, Matheu G, et al. ALK-positive large B-cell lymphomas express a terminal B-cell differentiation program and activated STAT3 but lack MYC rearrangements. *Mod Pathol*. 2013 Oct;26(10):1329-37.

23. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. 2012 Oct;26(10):2159-71.
24. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003 Dec;17(12):2257-317.

LINFOMAS B CON RASGOS INTERMEDIOS ENTRE LB Y LBDCG.

1. DEFINICIÓN:

Esta categoría diagnóstica provisional en la actual clasificación de la OMS es un grupo heterogéneo de neoplasias que no cumplen con los criterios diagnósticos establecidos para LB o LBDCG(1, 2). Las características morfológicas constituyen el primer requisito para el diagnóstico de este tipo de neoplasias. Así estos tumores muestran una morfología atípica para LB con áreas con una celularidad mixta de tamaño intermedio y grande, mitosis, patrón en cielo estrellado (morfologías semejantes a LB o LB-like) o aspecto blastoide. Si el caso tiene una morfología uniforme concordante con LBDCG se debe clasificar como tal, independientemente de los resultados de los estudios complementarios(1). Un porcentaje de estos casos representan la transformación de un Linfoma B Folicular de bajo grado previo(3, 4).

Este tipo de neoplasias son relativamente infrecuentes pero como grupo son más frecuentes que el linfoma de Burkitt en pacientes adultos. Habitualmente muestran rasgos clínicos de alto riesgo (IPI intermedio-alto, estadios avanzados(5-7)) y un pronóstico muy adverso(3-5, 7). En la actualidad no existe una terapia definida y cada caso debe tratarse en función de los factores clínicos al diagnóstico, incluyendo el IPI(1, 7).

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección.

Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

TIPO DE ESTUDIOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACION.

Análisis de LCR: El diagnóstico en LCR requiere excluir contaminación por SP y la demostración por CMF de una población B clonal(8).

Biopsia-cilindro de médula ósea: El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de Linfoma B inclasificable con rasgos intermedios entre LB y LBDCG plantean el diagnóstico diferencial con leucemia/linfoma linfoblástico de precursores B o T, linfoma B de células del manto (variante blastoide), Linfoma B Difuso de Células grandes y linfoma de Butkitt.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

Estos casos suelen mostrar un fenotipo de tipo centro germinal con expresión habitual de CD10 y BCL6 y expresión variable de BCL2 (~50%)(7, 10). En algunas series publicadas la sobreexpresión intensa de BCL2 se encuentra en hasta el 79% de los casos(7) y es un marcador útil en la distinción con LB. Otras alteraciones como la ausencia de expresión de CD10 también ayudan a identificar un fenotipo atípico para LB y apoyan

el diagnóstico(11). El índice proliferativo con Ki67 es habitualmente homogéneo y mayor del 90%. Aproximadamente la mitad de los casos muestran sobreexpresión de C-MYC en al menos el 50% de la celularidad neoplásica(6, 7).

Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC, ciclinaD1.

Panel de primera línea CMF: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, CD5, CD19, TdT, kappa, lambda(9).

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

El análisis de FISH es necesario para demostrar la presencia de traslocaciones de *MYC*, *BCL2* y *BCL6*. A diferencia del LB, en esta categoría *MYC* se encuentra reordenado en aproximadamente el 50% de los casos (habitualmente con un gen distinto a las *IG*) y no es la única alteración citogenética presente. Así, se pueden encontrar reordenamientos adicionales en *BCL2* (~15%)(12) y/o *BCL6* en estos casos(12). Los linfomas con doble hit son el subgrupo mejor caracterizado de estos casos y se definen por la presencia de reordenamientos concurrentes de *IGH-BCL2/t(14;18)(q32;q21)* y reordenamientos de *MYC/8q24*(5). Infrecuentemente se reordena */BCL6 (3q27)*(10). Un porcentaje variable de estos casos (15-30%) representan la transformación de un Linfoma B folicular de bajo grado (G1, G2) previo(3, 4). Es destacable, no obstante, que entre el 30%-67% de los casos de LBI-LB-LBDCG puede no tener traslocaciones de *MYC*(6, 7).

Así, la detección de reordenamientos de *MYC*, *BCL2* y *BCL6* mediante FISH con sondas de tipo BA debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de LBI-LB-LBDCG. La presencia de reordenamientos aislados de *MYC* debe hacer considerar la posibilidad de un LB de morfología atípica si el fenotipo es de tipo LB (CD10+BCL6+BCL2-). El estudio del cariotipo no es necesario pero recomendable, dado su potencial utilidad en el diagnóstico diferencial y para la identificación de anomalías secundarias

RECOMENDACIONES

1. **Panel de primera línea IHQ:** CD45 (ALC), CD20, CD3, CD10, Ki-67, BCL2, BCL6, TdT, C-MYC, ciclinaD1. **Grado C. Evidencia nivel IV**
2. El diagnóstico de LB-I-BCL-LBDCG requiere que el caso tenga una morfología atípica para LB y LBDCG. La morfología de estos casos muestran rasgos intermedios (formas burkitt-like, blastoides o la combinación de áreas de tipo LB con otras de tipo LBDCG). **Grado C. Evidencia nivel IV**
3. Una morfología típica de LBDCG apoya el diagnóstico de LBDCG independientemente del fenotipo y resultados del estudio de FISH. **Grado C. Evidencia nivel IV**
4. Una morfología de LB atípico con un fenotipo de LB (CD10+BCL6+BCL2-) y un reordenamiento aislado de *MYC* (demostrada la ausencia de alteraciones en *BCL2* y *BCL6*) debe hacer considerar LB atípico. En estos casos el estudio de cariotipo puede ser de utilidad (los LB-I-BCL-LBDCG presentan cariotipos complejos; esto es infrecuente en los LB). **Grado C. Evidencia nivel IV**
5. La detección de reordenamientos de *MYC*, *BCL2* y *BCL6* mediante FISH con sondas de tipo BA debe hacerse en todos los linfomas sugestivos de LBI-LB-LBDCG. **Grado C. Evidencia nivel IV**
6. La presencia de un doble hit genético (reordenamientos concurrentes de *IGH-BCL2/t(14;18)(q32;q21)* y *MYC(8q24)* o */BCL6(3q27)* y *MYC* se debe hacer constar en el informe anatomopatológico. **Grado C. Evidencia nivel IV**

REFERENCIAS:

1. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011 May;117(19):5019-32.
2. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.

3. Snuderl M, Kolman OK, Chen YB, Hsu JJ, Ackerman AM, Dal Cin P, et al. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2010 Mar;34(3):327-40.
4. Li S, Lin P, Fayad LE, Lennon PA, Miranda RN, Yin CC, et al. B-cell lymphomas with MYC/8q24 rearrangements and IGH@BCL2/t(14;18)(q32;q21): an aggressive disease with heterogeneous histology, germinal center B-cell immunophenotype and poor outcome. *Mod Pathol*. 2012 Jan;25(1):145-56.
5. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood*. 2011 Feb;117(8):2319-31.
6. Cook JR, Goldman B, Tubbs RR, Rimsza L, Leblanc M, Stiff P, et al. Clinical Significance of MYC Expression and/or "High-grade" Morphology in Non-Burkitt, Diffuse Aggressive B-cell Lymphomas: A SWOG S9704 Correlative Study. *Am J Surg Pathol*. 2014 Apr;38(4):494-501.
7. Perry AM, Crockett D, Dave BJ, Althof P, Winkler L, Smith LM, et al. B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and burkitt lymphoma: study of 39 cases. *Br J Haematol*. 2013 Apr.
8. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*. 2012.
9. NCCN. *NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas*. v 1.2013 ed, 2013.
10. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, Swerdlow SH. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2013 Mar;37(3):323-32.
11. Haralambieva E, Boerma EJ, van Imhoff GW, Rosati S, Schuurin E, Müller-Hermelink HK, et al. Clinical, immunophenotypic, and genetic analysis of adult lymphomas with morphologic features of Burkitt lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2005 Aug;29(8):1086-94.
12. Salaverria I, Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from a genetics perspective. *J Clin Oncol*. 2011 May 10;29(14):1835-43.

LINFOMA DE CÉLULAS DEL MANTO

1. DEFINICIÓN:

El linfoma de células del manto (LCM) es un linfoma B compuesto de células de tamaño mediano, monomorfo, con núcleos irregulares, que se caracteriza molecularmente por la traslocación de *CCND1*(1). El LCM supone del 3 al 10% de los LNH y suele afectar a pacientes de edad media-avanzada. La afectación ganglionar es la presentación más habitual. La localización extraganglionar más frecuente es el tracto aerodigestivo (tracto gastrointestinal y anillo de Waldeyer).

Se han descrito variantes histopatológicas agresivas (LCM blastoide y pleomórfico) y otras de curso indolente, con variable presentación clínica, frecuente afectación leucémica y extraganglionar, hipermutación somática de IgVH y expresión disminuida de SOX11(2-4).

Igualmente existe un subgrupo de casos, clínicamente equivalentes a LCM clásico, que carecen de la traslocación de *CCDN1* y presentan traslocaciones en *CCDN2(5)* o *CCDN3*. El LCM in situ es una forma muy inhabitual de linfocitosis ganglionar de fenotipo LCM con t(11;14) restringida a la capa interna de la zona del manto. Su incidencia es desconocida y su significado clínico es impreciso(6).

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección.

Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): Es la aproximación a utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

TIPO DE ESTUDIOS HISTOPATOLÓGICOS REQUERIDOS PARA LA ESTADIFICACION

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección para la estadificación de todos los casos de LCM. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro y estudios inmunofenotípicos y de citogenética/FISH (estos últimos en caso de que se demuestre infiltración por citometría de flujo-morfología).

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de LCM clásico plantean el diagnóstico diferencial histopatológico con otras formas de Linfoma B como Linfoma B folicular de bajo grado, Linfoma B de la zona marginal y leucemia linfocítica crónica B/ Linfoma linfocítico de linfocitos B pequeños. Las formas de linfoma del manto blastoide plantean el diagnóstico diferencial con Linfoma de Burkitt, Linfoma B Difuso de células grandes, formas intermedias entre LB y LBDCG y linfoma B linfoblástico. El linfoma del manto pleomórfico plantea el diagnóstico diferencial con Linfoma B folicular y Linfoma B difuso de células grandes. Existe un subgrupo (<5%) de LBDCG que muestran sobreexpresión de *CCDN1* no asociada con traslocación del gen(9).

4. 4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGENÉTICA (HIS-C).

El LCM clásico se caracteriza por la expresión de CD20, CD5, CD43, BCL2 y CICLINAD1. No se suele observar expresión de CD23 (<10%). Habitualmente se observa restricción de cadenas ligeras lambda. Se pueden observar fenotipos anómalos con expresión de CD10 y BCL6, especialmente en las formas agresivas (i.e manto pleomórfico), así como negatividad para CD5.

La detección de la expresión de SOX11 mediante IHQ es de utilidad en las formas de LCM ciclinaD1 negativos(5). En estos casos se suele encontrar sobreexpresión de *CCDN2* o *CCDN3* así como negatividad para p27(5, 10, 11).

Los estudios de perfil de expresión génica identifican la firma molecular de proliferación como un marcador pronóstico significativo(12). El índice proliferativo cuantificado con Ki67 es un marcador surrogado de esta firma y tiene valor pronóstico en LCM(13, 14), al igual que el recuento mitótico(1, 14).

Panel de primera línea CMF: CD19, CD20/CD22, CD5, CD23, CD200, k/l

Panel de segunda línea CMF: FMC7

Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD5, CD23, Ki-67, CICLINAD1.

Panel de segunda línea IHQ: SOX11, p27, p53, *CCDN2*, *CCDN3*.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

La detección de reordenamientos de *CCDN1* mediante FISH con sondas de tipo BA es de elección para el diagnóstico de LCM. Habitualmente la positividad mediante IHQ con el anticuerpo contra *CCDN1* hace innecesaria la confirmación mediante FISH. Una indicación de FISH son los casos con tinción heterogénea y de intensidad variable para *CCDN1* ya que cerca del 2% de LBDCG pueden sobreexpresar *CCDN1*, sin asociar traslocación del gen(9). Los casos de LCM *CCDN1* negativos presentan reordenamientos de *CCDN2* que es recomendable pero no necesario identificar para el diagnóstico si el perfil IHQ es concordante con LCM (CD20+CD5+SOX11+, p27-).

El estudio del cariotipo en muestras estimuladas con TPA 72 horas no es necesario en el proceso diagnóstico habitual pero si recomendable, ya que permite detectar anomalías asociadas, algunas de las cuales se asocian a un pronóstico desfavorable (cariotipos complejos y/o tetraploides, traslocaciones de *MYC*, deleciones de 17p, 13q33 entre otras y/o ganancias de 3q26, etc). Estas anomalías también pueden ser detectadas mediante FISH y/o arrays (CGH o SNPs), si bien no existen recomendaciones clínicas establecidas en este sentido.

RECOMENDACIONES

1. Panel de primera línea IHQ: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD5, CD23, Ki-67, CCLINAD1. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Panel de segunda línea IHQ: SOX11, p27, p53, CCDN2, CCDN3. Grado C. Evidencia nivel IV
3. La detección de la expresión de SOX11 mediante IHQ es necesaria en las formas de LCM ciclinaD1 negativos. Grado C. Evidencia nivel IV
4. La detección de reordenamientos de CCDN1 mediante FISH con sondas de tipo BA es el método de elección complementario al diagnóstico de LCM. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Una indicación de FISH para detectar traslocación de CCDN1 son los casos con tinción heterogénea y de intensidad variable para CCDN1. La expresión uniforme e intensa mediante IHQ de CCLINAD1 es suficiente para el diagnóstico en los casos de LCM típico. Grado C. Evidencia nivel IV
6. Los casos de LCM CCDN1 negativos presentan traslocaciones de CCDN2 que es recomendable pero no necesario identificar para el diagnóstico si el perfil IHQ es concordante con LCM (CD20+CD5+SOX11+, p27-). Grado C. Evidencia nivel IV
7. El análisis de cariotipo no es necesario pero sí recomendable en el proceso diagnóstico habitual del LCM. Grado C. Evidencia nivel IV
8. No es necesario realizar la tinción de CCDN1 en los casos con patrón histopatológico de hiperplasia linfoide reactiva sin sospecha clínica de proceso linfoproliferativo. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Navarro A, Clot G, Royo C, Jares P, Hadzidimitriou A, Agathangelidis A, et al. Molecular subsets of mantle cell lymphoma defined by the IGHV mutational status and SOX11 expression have distinct biologic and clinical features. *Cancer Res.* 2012 Oct 15;72(20):5307-16.
3. Fernandez V, Salamer O, Espinet B, Sole F, Royo C, Navarro A, et al. Genomic and gene expression profiling defines indolent forms of mantle cell lymphoma. *Cancer Res.* 2010 Feb 15;70(4):1408-18.
4. Ondrejka SL, Lai R, Smith SD, Hsi ED. Indolent mantle cell leukemia: a clinicopathological variant characterized by isolated lymphocytosis, interstitial bone marrow involvement, kappa light chain restriction, and good prognosis. *Haematologica.* 2011 Aug;96(8):1121-7.
5. Salaverria I, Royo C, Carvajal-Cuenca A, Clot G, Navarro A, Valera A, et al. CCND2 rearrangements are the most frequent genetic events in cyclin D1(-) mantle cell lymphoma. *Blood.* 2013 Feb 21;121(8):1394-402.
6. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood.* 2011 May;117(19):5019-32.

7. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting. 2012.
8. NCCN Guidelines, Non Hodgkin Lymphomas. v 1.2013 ed, 2013.
9. Ok CY, Xu-Monette ZY, Tzankov A, O'Malley DP, Montes-Moreno S, Visco C, et al. Prevalence and clinical implications of cyclin D1 expression in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with immunochemotherapy: A report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Cancer*. 2014 Mar 19.
10. Quintanilla-Martinez L, Thieblemont C, Fend F, Kumar S, Pinyol M, Campo E, et al. Mantle cell lymphomas lack expression of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor. *Am J Pathol*. 1998 Jul;153(1):175-82.
11. Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Dave S, Wright G, Rosenwald A, et al. Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study based on gene expression profiling. *Blood*. 2005 Dec 15;106(13):4315-21.
12. Rosenwald A, Wright G, Wiestner A, Chan WC, Connors JM, Campo E, et al. The proliferation gene expression signature is a quantitative integrator of oncogenic events that predicts survival in mantle cell lymphoma. *Cancer Cell*. 2003 Feb;3(2):185-97.
13. Katzenberger T, Petzoldt C, Holler S, Mader U, Kalla J, Adam P, et al. The Ki67 proliferation index is a quantitative indicator of clinical risk in mantle cell lymphoma. *Blood*. 2006 Apr 15;107(8):3407.
14. Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreyling MH, Campo E, Norton A, et al. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma (MCL): a clinicopathological study from the European MCL Network. *Br J Haematol*. 2005 Oct;131(1):29-38.

2c. PLASMOCITOMA/GMSI/MIELOMA MÚLTIPLE.

1. DEFINICIÓN:

Las neoplasias de células plasmáticas derivan de la expansión de un clon de células terminalmente diferenciadas, que han realizado el cambio de clase (de IgM/IgD a IgG, o IgA y más raramente IgE) o *switching*, y que secretan inmunoglobulina monoclonal (paraproteína o componente M). Se discute aquí el diagnóstico histopatológico de la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), mieloma múltiple y plasmocitoma óseo y extraóseo. El diagnóstico definitivo de estas entidades descansa en la combinación de los hallazgos histopatológicos con los hallazgos clínicos y de laboratorio (paraproteína sérica, anemia, lesiones líticas, daño renal, hipercalcemia). En ausencia de estos datos, se debe emitir un diagnóstico genérico de tipo neoplasia de células plasmáticas que se deberá valorar en el contexto clínico y de laboratorio.

2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Aspirado de MO: Es un método habitual para el diagnóstico de GMSI/mieloma múltiple, que exige tanto la presencia de infiltrado por células plasmáticas como su clonalidad(1).

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es un método complementario en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con GMSI/mieloma múltiple.

El examen morfológico del aspirado puede ser suficiente para el diagnóstico de las neoplasias de células plasmáticas si se acompaña de los datos clínicos, inmunofenotípicos (IHQ, CMF), citogenéticos o moleculares necesarios. No obstante, el estudio de la biopsia de MO con inmunohistoquímica permite au-

mentar la sensibilidad y precisión en la estimación de la infiltración por células plasmáticas, y se sigue recomendando (1-5).

La infiltración plasmocitaria de la médula ósea se basará en el examen convencional tanto del aspirado como de la biopsia de médula ósea. Dicha estimación no debería hacerse por ahora con citometría de flujo, ya que los estudios que determinarán si tal enumeración es factible están aún en desarrollo. Si al enumerar las células plasmáticas hay una discrepancia entre la estimación del aspirado y la de la biopsia, se deberá utilizar el número más elevado que se obtenga(1).

Biopsia escisional/incisional del tejido extramedular afectado: Es el método de elección y debe de ser el método utilizado siempre en los casos de lesiones (plasmocitomas) accesibles.

Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): Es la alternativa que se utilizaría en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

Si se utiliza sólo punción aspiración con aguja (fina o gruesa), es obligado el empleo de técnicas complementarias como Inmunohistoquímica, Citometría de Flujo, Hibridación In Situ o Biología Molecular.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

El primer diagnóstico diferencial a valorar en los casos de biopsia de MO en paciente con sospecha de discrasia de células plasmáticas es la distinción entre plasmocitosis reactiva, GMSI y mieloma. El segundo diagnóstico diferencial a plantear es con linfoma B linfoplasmacítico/macroglobulinemia de Waldenström si existe una población mixta, linfoide y plasmocelular.

Las células plasmáticas en la MO normal se disponen de localización perivascular, aisladas o en pequeños grupos, sin reacción estromal y sin mostrar inmunofenotipos aberrantes, restricción de cadenas ligeras o anomalías citogenéticas o moleculares. Los casos de gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) muestran un incremento significativo de la cantidad de plasmáticas en el tejido, de localización intersticial, con evidente restricción de cadenas ligeras mediante IHQ. Si se utilizan técnicas de citometría de flujo es posible distinguir células con fenotipo aberrante e incluso con anomalías genéticas, incluyendo traslocaciones cromosómicas. En estos casos se pueden observar pequeños grupos (5-10 células) de plasmáticas intersticiales, sin formar grandes grupos, sábanas o distorsión arquitectural con reacción estromal. El aspirado de las MO con GMSI no muestra más de un 10% de células plasmáticas clonales y el componente M es inferior a 30 g/L. Además, desde el punto de vista clínico, el diagnóstico de GMSI exige la ausencia de repercusiones fisiopatológicas (ausencia de anemia, lesión ósea, lesión renal o hipercalcemia debidas a la presencia del clon de células plasmáticas anómalas). En el caso del mieloma múltiple (quiescente o sintomático) la biopsia de MO suele mostrar un infiltrado más denso, con distorsión arquitectural y atipia celular (plasmáticas atípicas, con inclusiones nucleares y otras alteraciones morfológicas). El patrón del infiltrado puede ser intersticial, nódulo-intersticial o difuso. El estudio IHQ y de CMF es de gran utilidad para demostrar infiltrados mielomatosos ocultos. En ocasiones el porcentaje de células plasmáticas atípicas es inferior al 10% en el aspirado y la infiltración tisular sutil. En estos casos es necesaria la presencia del resto de criterios clínicos para el diagnóstico de mieloma múltiple (componente monoclonal >30 g/L y ausencia de consecuencias fisiopatológicas –criterios CRAB- para el mieloma quiescente, o cualquier componente si hay alguna de las consecuencias fisiopatológicas para el mieloma sintomático)(1).

El espectro morfológico de los casos de mieloma es amplio con formas con atipia mínima y otras de aspecto linfoplasmocitoide, plasmablástico o anaplásico. La atipia morfológica puede ser el único dato si el infiltrado es sutil. En estos casos es esencial el estudio IHQ y de CMF.

Hay que considerar el diagnóstico diferencial con metástasis de neoplasias no hematológicas en los casos de morfología anaplásica o con linfomas B no Hodgkin de alto grado en los casos de morfología inmunoblástica/plasmablástica, aunque en estos casos la ausencia del componente monoclonal ayuda mucho en la diferenciación

En casos de plasmocitoma extramedular (por ejemplo de localización en tracto digestivo) también hay que plantear el diagnóstico diferencial con linfomas B de bajo grado con diferenciación plasmocítica (linfoma B de la zona marginal, linfoma B linfoplasmocítico).

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HBRIDACIÓN IN SITU CROMOGÉNICA (HIS-C)(6-9).

Panel de primera línea IHQ: CD138, CD56, kappa, lambda.

Panel de primera línea CMF: CD45, CD19, CD138, CD38, beta-2-microglobulina, CD56, Clg-kappa, Clg-lambda.

El ratio normal de expresión de cadenas ligeras en células plasmáticas es de 2-4 células kappa por cada célula lambda. Un ratio de 8 o más células kappa es concordante con monotipia kappa. Inversamente un ratio de 4 o más células lambda por cada célula kappa es un marcador indirecto de monoclonalidad lambda(7). Mediante citometría de flujo estos números varían, ya que es posible distinguir pequeños números de células plasmáticas aberrantes. Si se encuentran estas células y el porcentaje de aberrantes respecto al de plasmáticas totales no supera el 95%, estaremos muy probablemente ante una GMSI, mientras que en el caso del mieloma ese porcentaje se supera (habitualmente es >99%).

Panel de segunda línea IHQ: CD38, VS38, HIS para kappa y lambda, ciclinaD1, IgM, IgG, IgD, IgA, IgE.

Panel de segunda línea CMF: CD27, CD28, CD81 y CD117.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

No son esenciales para el diagnóstico (1, (7). No obstante la evidencia disponible demuestra un claro valor pronóstico de las alteraciones genéticas evaluadas mediante cariotipo y/o FISH en los casos de mieloma múltiple.(10) Excepcionalmente, cuando la demostración de clonalidad no se ha podido hacer en suero o en orina, y en el tejido ha fallado la IHQ y la CMF, el estudio molecular (presencia de monoclonalidad) o la FISH (presencia de anomalías cromosómicas) puede descartar la existencia de cuadros reactivos.

RECOMENDACIONES

1. En caso de sospecha de neoplasia de células plasmáticas se debe hacer un aspirado y biopsia de médula ósea. El estudio de CMF y citogenética es conveniente. Si con los datos del aspirado y biopsia, junto a los datos clínico-biológicos no se llega a un diagnóstico definitivo, se deben añadir técnicas moleculares. Grado C. Evidencia nivel IV
2. En la biopsia de MO, realizar siempre un estudio IHQ con panel de primera línea.: CD138, CD56, kappa, lambda. Grado C. Evidencia nivel IV
3. En casos de infiltración medular significativa por plasmáticas clonales, en ausencia del resto de datos clínicos para el diagnóstico de mieloma múltiple, hay que plantear un diagnóstico genérico de neoplasia de células plasmáticas proporcionando el porcentaje y patrón de infiltración para permitir diferenciar entre GMSI y MM quiescente. Grado C. Evidencia nivel IV
4. En casos de morfología plasmablástica o anaplásica, valorar el diagnóstico diferencial con infiltración por LNH y metástasis de proceso no hematológico respectivamente. Grado C. Evidencia nivel IV
5. En casos de morfología linfoplasmocitoide o mixta linfoide y plasmocelular, valorar el diagnóstico diferencial con linfoma B linfoplasmacítico y otros linfomas B indolentes. Grado C. Evidencia nivel IV
6. Valorar el diagnóstico diferencial con linfomas de célula B en casos de plasmocitoma extraóseo. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014 Nov;15(12):e538-e48.
2. Joshi R, Horncastle D, Elderfield K, Lampert I, Rahemtulla A, Naresh KN. Bone marrow trephine combined with immunohistochemistry is superior to bone marrow aspirate in follow-up of myeloma patients. *J Clin Pathol.* 2008 Feb;61(2):213-6.

3. Stifter S, Babarovic E, Valkovic T, Seili-Bekafigo I, Stemberger C, Nacinovic A, et al. Combined evaluation of bone marrow aspirate and biopsy is superior in the prognosis of multiple myeloma. *Diagnostic pathology*. 2010;5:30.
4. NCCN. Multiple Myeloma v2.2015. 2015.
5. Al-Quran SZ, Yang L, Magill JM, Braylan RC, Douglas-Nikitin VK. Assessment of bone marrow plasma cell infiltrates in multiple myeloma: the added value of CD138 immunohistochemistry. *Hum Pathol*. 2007 Dec;38(12):1779-87.
6. Cao W, Goolsby CL, Nelson BP, Singhal S, Mehta J, Peterson LC. Instability of immunophenotype in plasma cell myeloma. *Am J Clin Pathol*. 2008 Jun;129(6):926-33.
7. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*. 2012.
8. Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, Bezdicikova L, Brooimans RA, Bumbea H, et al. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Hematologica*. 2008 Mar;93(3):431-8.
9. Mateo G, Castellanos M, Rasillo A, Gutierrez NC, Montalban MA, Martin ML, et al. Genetic abnormalities and patterns of antigenic expression in multiple myeloma. *Clin Cancer Res*. 2005 May 15;11(10):3661-7.
10. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, Shaughnessy J, Gutierrez N, Stewart AK, et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009 Dec;23(12):2210-21.

3. LINFOMAS DE HODGKIN. LINFOMAS B INTERMEDIOS ENTRE LH Y LBDCG

Autor para la correspondencia: Juan Fernando García (jfgarcia@mdanderson.es)

1. DEFINICIÓN:

El linfoma de Hodgkin (LH) es una neoplasia clonal, en la mayoría de los casos derivada de células linfoides B (1,2), caracterizada por la presencia de muy escasas células neoplásicas acompañadas de un abundante microambiente celular de características inflamatorias (3). Se reconocen dos entidades clinicopatológicas diferenciadas: el LH de tipo predominio linfocítico nodular (LHPLN) y el LH clásico (LHc) (4).

El LHPLN es una neoplasia clonal derivada de células linfoides B (5), caracterizada por la presencia de las células de PL ó L&H (variantes linfocítica-histiocítica), con expresión de marcadores fenotípicos B (CD20, CD79a, BCL6, PAX5, OCT2) y EMA, (6-7) acompañadas de grandes agregados de linfocitos B maduros e histiocitos, en un patrón de crecimiento nodular o nodular y difuso, y característicamente rodeadas de linfocitos T con fenotipo T_{FH} (PD1+) (8). Este tumor no está asociado a infección por virus de Epstein-Barr (VEB) (4,6).

El LHc se define por la presencia de las características células de Hodgkin y de Reed-Sternberg (HRS), con expresión de CD30 y CD15 y con expresión ausente o defectiva de marcadores fenotípicos B en la mayoría de casos (CD20-/+ , CD79a- , OCT2-/+), acompañadas de un fondo reactivo rico en linfocitos T, histiocitos, eosinófilos, neutrófilos, células plasmáticas, etc. (1). El patrón de crecimiento puede ser nodular o difuso. La composición del microambiente reactivo y la presencia de esclerosis define los subtipos histológicos: LHc rico en linfocitos (LHcRL), esclerosis nodular (EN), celularidad mixta (CM), y depleción linfocitaria (DL). El LHc está asociado a infección por VEB en un porcentaje variable de casos (30-70%) (9).

El LH constituye el 25-30% de todos los linfomas, siendo mucho más frecuente las formas de LHc (95%) que las formas de LHPLN (5%).

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección. Punción biopsia con aguja gruesa (BAG): se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestras para diagnóstico).

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos de LH. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de LHPLN plantean diagnóstico diferencial histopatológico con LHc y con linfomas B difusos de células grandes (LBDCG), en particular las formas de Linfoma B rico en células T e histiocitos, así como procesos reactivos (en particular hiperplasia folicular reactiva con transformación progresiva de centros germinales) (3).

Los casos de LHc plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos neoplásicos no linfoides y linfoides, así como procesos reactivos. Es particularmente trascendente la diferenciación con linfomas B difusos de células grandes (LBDCG), en particular las formas de Linfoma B rico en células T e histiocitos (7), y con Linfomas de células T (linfoma T periférico, linfoma T angioinmunoblástico y linfoma anaplásico ALK+) (3).

En el diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina –eosina (HE). El diagnóstico se establece por la presencia de las células de HRS y sus variantes, en el apropiado contexto celular reactivo. El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea B (CD20, CD79a) y línea T (CD3), además de CD30 y CD15. Adicionalmente, en el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta:

- LHPLN: morfología característica y expresión normal de marcadores de línea B; puede ser complementado con PAX5 y OCT2; la celularidad acompañante son linfocitos B maduros IgD+, formando nódulos (al menos focalmente).
- LHc: morfología característica y presencia de células de HRS típicas en todas las formas de la enfermedad; expresión de CD30 (en virtualmente todos los casos) y CD15 (75%); expresión defectiva de CD45, CD20, CD79a; las células de HRS expresan habitualmente PAX5 y OCT2; la celularidad acompañante es variada según subtipos histológicos:
 - LHCRL: imagen semejante a LHPLN, con nódulos de linfocitos B maduros, pero con células neoplásicas de HRS en lugar de células L&H (11).
 - LHc subtipo EN: nódulos neoplásicos rodeados de esclerosis con abundantes linfocitos T, histiocitos y eosinófilos; variantes "lacunares" de células de HRS.
 - LHc subtipo CM: patrón difuso o nodular; puede haber fibrosis intersticial fina; fondo celular muy heterogéneo, con abundantes histiocitos (incluso granulomas), células plasmáticas y eosinófilos; variantes "mumificadas" de células de HRS.
 - LHc subtipo DL: predominio de abundantes células tumorales, HRS y variantes mononucleares; escaso fondo reactivo con fibrosis intersticial.
- Linfomas B inclasificable, con rasgos intermedios entre LBDCG y LHc: se define por la presencia de rasgos morfológicos y fenotípicos intermedios o superponibles entre LHc y LBDCG, habitualmente linfoma B difuso primario mediastínico; presencia de típicas células HRS, CD30+, muy numerosas y con patrones difuso o nodular y expresión intensa de marcadores de línea B (3).
- LBDCG asociado a EBV y edad avanzada, granulomatosis linfomatoide y casos de desorden linfoproliferativo post-trasplante de tipo LH: pueden presentar rasgos morfológicos de LHc; es imprescindible la evaluación de EBV y considerar expresión normal de marcadores de línea B (3).
- En determinados casos, se debe considerar en el diagnóstico diferencial subtipos específicos de linfomas T. Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (localización de las lesiones) y del paciente (edad), rasgos morfológicos e inmunofenotípicos.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ).

En los casos característicos y ante una presentación clínica típica, un adecuado estudio morfológico de la biopsia y un panel IHQ básico serán suficientes para el diagnóstico:

Panel de primera línea:

Linfoma de Hodgkin clásico: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD30, CD15, PAX5.

Es necesario determinar la presencia de EBV mediante IHQ para EBV-LMP1.

Linfoma de Hodgkin de tipo Predominio Linfocítico Nodular: CD20, OCT2, CD3, PD1, BCL2.

Paneles de segunda línea:

- Ante sospecha de LHPLN y en casos conflictivos es recomendable el uso de EMA, IGD y otros marcadores de línea B como CD79 y BCL6.
- Existe evidencia de que la expresión incrementada de proteína BCL2 en casos de LHc, puede asociarse a falta de respuesta a terapia habitual (nivel de evidencia III) (12,13).
- Ante el diagnóstico diferencial de subtipos específicos de linfomas T, se deben incluir marcadores fenotípicos dirigidos: CD4, CD8, PD1, ALK.
- Conveniente si se sospecha LBDCG asociado a EBV y edad avanzada, granulomatosis linfomatoide y desorden linfoproliferativo post-trasplante: hibridación in situ para EBV-EBER.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

En general, el análisis de clonalidad linfoide B (reordenamientos de IGH) mediante PCR y electroforesis capilar no es necesario para el diagnóstico de LHc.

En contadas ocasiones, en especial ante la expresión anormal de marcadores fenotípicos T, o dificultad en el diagnóstico diferencial con linfomas T, puede ser útil el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) (14).

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo no están recomendados en el diagnóstico del LH.

RECOMENDACIONES

1. Panel de primera línea Linfoma de Hodgkin clásico: CD45 (ALC), CD20, CD3, PAX5, CD30, CD15, EBV-LMP1.
2. Panel de primera línea Linfoma de Hodgkin de tipo Predominio Linfocítico Nodular: CD20, OCT2, CD3, PD1, BCL2. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Paneles de segunda línea: CD79, BCL6, EMA, IGD, CD4, CD8, ALK, hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Los estudios citogenéticos/cariotipo no están recomendados en el diagnóstico del LH. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Hummel M, Marafioti T, Stein H. Clonality of Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 1999;340(5):394-395.
2. Marafioti T, Hummel M, Foss HD, et al. Hodgkin and reed-sternberg cells represent an expansion of a single clone originating from a germinal center B-cell with functional immunoglobulin gene rearrangements but defective immunoglobulin transcription. *Blood*. 2000;95(4):1443-1450.
3. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2008.
4. Anagnostopoulos I, Hansmann ML, Franssila K, et al. European Task Force on Lymphoma project on lymphocyte predominance Hodgkin disease: histologic and immunohistologic analysis of submitted cases reveals 2 types of Hodgkin disease with a nodular growth pattern and abundant lymphocytes. *Blood*. 2000;96(5):1889-1899.
5. Marafioti T, Hummel M, Anagnostopoulos I, et al. Origin of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's disease from a clonal expansion of highly mutated germinal-center B cells. *N Engl J Med*. 1997;337(7):453-458.
6. Mason DY, Banks PM, Chan J, et al. Nodular lymphocyte predominance Hodgkin's disease. A distinct clinicopathological entity. *Am J Surg Pathol*. 1994;18(5):526-530.
7. Fraga M, Sánchez-Verde L, Forteza J, García-Rivero A, Piris MA. T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma is a disseminated aggressive neoplasm: differential diagnosis from Hodgkin's lymphoma. *Histopathology*. 2002;41(3):216-229.
8. Nam-Cha SH, Roncador G, Sanchez-Verde L, et al. PD-1, a follicular T-cell marker useful for recognizing nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2008;32(8):1252-1257.

9. Khan G. Epstein-Barr virus, cytokines, and inflammation: a cocktail for the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma? *Exp Hematol.* 2006;34(4):399-406.
10. Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*; 2012.
11. Nam-Cha SH, Montes-Moreno S, Salcedo MT, Sanjuan J, Garcia JF, Piris MA. Lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma: distinctive tumor and microenvironment markers. *Mod Pathol.* 2009;22(8):1006-1015.
12. Garcia JF, Camacho FI, Morente M, et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: analyses using tissue microarrays. *Blood.* 2003;101(2):681-689.
13. Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Vassilakopoulos TP, et al. BCL-2 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin disease predicts a poorer prognosis in patients treated with ABVD or equivalent regimens. *Blood.* 2002;100(12):3935-3941.
14. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia.* 2012;26(10):2159-2171.

4. LINFOMAS T Y T/NK

4a. LINFOMAS/LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS (B y T)

Autor para la correspondencia: *Máximo Fraga* (maximo.fraga@usc.es)

1. DEFINICIÓN

La OMS (2008) las define como neoplasias de células precursoras (linfoblastos) comprometidas hacia estirpe B o T. Como contrapartida normal se postulan células stem hematopoyéticas o células progenitoras B en el primer caso y células progenitoras T o linfocitos tímicos en el segundo.

Morfológicamente constan de células blásticas de pequeño o mediano tamaño, con citoplasmas escasos y núcleos irregulares o redondeados que generalmente muestran cromatina finamente punteada y nucleolo poco aparente.

Se trata de una enfermedad típica de la infancia: el 75% de los pacientes tiene menos de 6 años. Se estima una incidencia mundial de entre 1-4,75 cada 100.000 personas/año.

La misma enfermedad puede presentarse como linfoma (lesión de tipo masa) o como leucemia (afectación de médula ósea y sangre periférica). Si coexisten ambos tipos de afectación, la denominación es puramente arbitraria, aunque en protocolos terapéuticos suele emplearse un umbral del 25% de blastos para considerarlo leucemia. Entre los casos de fenotipo B, lo habitual es la presentación leucémica, mientras que las neoplasias precursoras T suelen ser linfomas con masa mediastínica.

La clasificación actual de la OMS (2008) las divide en:

- Linfoma/leucemia linfoblástica B (no específica)
- Linfoma/leucemia linfoblástica B con anomalías citogenéticas recurrentes
- Linfoma/leucemia linfoblástica T

De acuerdo con ello, basta el estudio morfológico e inmunohistoquímico para establecer el diagnóstico de linfoma/leucemia linfoblástica (LLB) y distinguir entre LLB de fenotipo B (LLB-B) y fenotipo T (LLB-T). En cambio, se requerirán estudios citogenéticos para saber si un caso de LLB-B presenta alteraciones cromosómicas características que permitan subclasificarlo.

2. TIPO DE MUESTRA IDÓNEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia de médula ósea: La médula ósea se encuentra siempre infiltrada, por definición, en los casos leucémicos. La infiltración suele ser difusa en la presentación, pero en las recaídas puede ser focal. Salvo en casos de médula “empaquetada” o fibrosis reticulínica, el aspirado medular y/o la sangre periférica pueden aportar información muy valiosa para el diagnóstico, con el inmunofenotipo por citometría de flujo y los estudios citogenéticos.

Biopsia escisional/incisional de adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección siempre que no exista afectación medular. En el linfoma LB-B, los tejidos más frecuentemente afectados son piel, tejidos blandos, hueso y ganglios linfáticos. En el linfoma LB-T suele haber una masa mediastínica anterior y, a menudo, adenopatías, aunque la presentación puede incluir también otras localizaciones.

Punción-biopsia con aguja gruesa (BAG): En casos sin afectación medular y en los que la biopsia escisional/incisional esté contraindicada por la localización de la lesión y/o la situación clínica del paciente.

Punción-aspiración con aguja fina (PAAF): No debe utilizarse para el diagnóstico inicial; su uso solo sería admisible, en ciertos casos, para el seguimiento de la enfermedad.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial de LLB se debe realizar, en primer lugar, con otras proliferaciones de morfología de tipo blástico. En algunas ocasiones, determinadas características morfológicas que

pueden aparecer, como imagen “en cielo estrellado” o una arquitectura multinodular (“seudofolicular”), pueden plantear también problemas con linfoma de Burkitt o linfoma folicular, respectivamente. También deben ser considerados tumores no hematolinfoides que presentan una morfología semejante.

En concreto, los diagnósticos diferenciales que se pueden plantear son:

- Leucemia mieloide aguda (LMA) y sarcoma mieloide (SM)
- Leucemia aguda de estirpe ambigua
- Neoplasia de célula dendrítica blástica plasmocitoide
- Linfoma del manto blastoide
- Linfoma de Burkitt
- Linfoma folicular
- Linfoma B difuso de células grandes
- Timo ectópico
- Timoma rico en linfocitos
- Tumores de células redondas y azules (sarcoma de Ewing, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma embrionario, meduloblastoma)
- Hematogonias (precursores normales de células B en médula ósea)

Con respecto a la diferenciación entre LLB-B, LLB-T y LMA/SM, una fuente de error pueden ser las positividades “aberrantes”, es decir, la expresión de marcadores que son más propios de otras estirpes celulares que de la verdadera estirpe tumoral. Hay que recordar que LLB-T puede expresar antígenos B (p. ej., CD79a en un 10% de casos), y viceversa. Los LLB -B y -T también pueden expresar algunos antígenos mieloides (CD13, CD15, CD33), así que esto no supone automáticamente un diagnóstico de LMA/SM o que se trate de una neoplasia bifenotípica. Para el diagnóstico de leucemia aguda de estirpe ambigua deben seguirse los criterios de la OMS (2008).

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

Panel de primera línea: CD79a, PAX5, CD3, CD7, CD10, TdT, mieloperoxidasa.

Paneles de segunda línea:

- LLB-B: CD19, CD22, CD24, CD25, CD15, CD13, IgM.
- LLB-T: CD2, CD5, CD4, CD8, CD34, CD1a.

El panel de primera línea tiene como objetivo confirmar el diagnóstico de LLB y asignar la estirpe más probable con anticuerpos relativamente comunes. El segundo panel confirma la estirpe tumoral y ofrece información adicional para subclasificar la enfermedad en función de su grado de diferenciación, lo que parece tener trascendencia clínica; en el caso de LLB-B, algunos de los marcadores propuestos se relacionan con alteraciones citogenéticas recurrentes (v. siguiente apartado). Existe un pequeño porcentaje de casos de LLB y T que muestran expresión limitada o negatividad para TdT.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

En la categoría de **LLB-B no específica** existen alteraciones genéticas que se correlacionan con pronóstico adverso: la amplificación intracromosómica del gen AML1 en el cromosoma 21 (iAMP21) y la muy rara t(17;19).

En la **LLB-B con anomalías citogenéticas recurrentes** se reconocen las siguientes alteraciones genéticas asociadas a una biología distintiva de la enfermedad:

- t(9;22)(q33;q11.2); BCR-ABL1 (fenotipo característico: expresión de CD19, CD10, CD25, CD13 y CD33): adultos, pronóstico infausto, tratamiento adicional con imatinib mejora la supervivencia precoz libre de evento.
- t(v;11q23); reordenamiento de MLL (fenotipo característico: CD19+, CD10-, CD15+): alto recuento leucocitario, afectación de sistema nervioso central.
- t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (fenotipo característico: CD19+, CD10+, CD13+): buena respuesta a tratamiento estándar.

- hiperdiploidía cromosómica (CD19+, CD10+; otros, variables): buena respuesta a tratamiento estándar.
 - hipodiploidía (CD19+, CD10+; otros, variables): mal pronóstico.
 - t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH (CD19+, CD10+; otros, variables): eosinofilia reactiva inducida por IL-3, blastos pueden ser menos del 20% en médula ósea e indetectables en sangre periférica.
 - t(1;19)(q23;p13.3); E2A-PBX1 (fenotipo característico: CD19+, CD10+, IgMc): no presenta asociación significativa con la respuesta a protocolos terapéuticos actuales, pero sus peculiares fenotipo y genética sustentan su reconocimiento como una entidad aparte.

En **LLB-T**, aunque existen numerosas alteraciones citogenéticas recurrentes, no son necesarias para el diagnóstico y su relevancia pronóstica es controvertida. Se trata habitualmente de translocaciones, que involucran a la región reguladora de uno de los loci TCR y a genes como HOX11, MYC, TAL1, LYL1, HOX11L2, NOTCH1, etc.

Con respecto a los genes de receptores de antígenos (IgH y TCR), prácticamente todos los casos muestran reordenamiento clonal de los mismos, pero es frecuente la denominada “infidelidad de estirpe”: hasta un 70% de LLB-B pueden presentar clonalidad adicional para TCR; en el caso de LLB-T, un 20% pueden presentar también clonalidad para IgH.

RECOMENDACIONES

1. Debe tenerse siempre en cuenta, para interpretar los datos inmunohistoquímicos, que no hay ningún marcador absolutamente específico para una entidad. Como en cualquier otro campo de la patología, el diagnóstico debe establecerse en función de la morfología, con un panel de anticuerpos adecuado, y de acuerdo con el contexto clínico del paciente. Por ejemplo, TdT, aunque muy característico de LLB, puede ser positivo también en casos de LMA/SM. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Debe recordarse que los LLB, además de los marcadores de estirpe “propios”, pueden expresar marcadores de la otra estirpe linfoide o incluso marcadores mieloides, aunque generalmente de forma más débil o restringida. Los diagnósticos de “estirpe ambigua” deben ceñirse a los criterios establecidos en la clasificación de la OMS (2008). Grado C. Evidencia nivel IV
3. En tejidos parafinados, los marcadores más sensibles y específicos de estirpe B y T se consideran PAX5 y CD3 respectivamente, teniendo en cuenta las salvedades del apartado anterior (PAX5, por ejemplo, puede ser positivo también en algunas LMA, especialmente las que portan t(8;21)).
4. De acuerdo con el panel IHQ de primera línea propuesto, se puede sustentar un diagnóstico de LLB de acuerdo con los siguientes perfiles resultantes:
5. LLB-B: CD79a+, PAX5+, CD10+, TdT+, CD3-, CD7-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV
6. LLB-T: CD3+, CD7+, TdT+, CD10- (puede ser+), CD79a-, PAX5-, mieloperoxidasa-. Grado C. Evidencia nivel IV
7. El panel IHQ de segunda línea ayuda a establecer la estirpe tumoral en casos dudosos. También, aunque esto es opcional, permite especificar el grado de diferenciación de los LLB. Grado C. Evidencia nivel IV
8. A la hora de valorar una masa mediastínica, debe recordarse que la mera presencia de células T con fenotipo inmaduro (TdT, CD1a, CD99 y CD3 +) no es sinónimo de LBL-T, ya que tanto en timo normal como en hiperplasias tímicas y timomas, existen poblaciones normales con inmunofenotipo similar. Grado C. Evidencia nivel IV
9. De igual manera, la presencia de células CD19+, CD10+ en médula ósea no implica necesariamente un diagnóstico de LBL-B, ya que puede tratarse de hematogonias, precursores normales de células B. Grado C. Evidencia nivel IV
10. En LLB los reordenamientos de IgH y TCR no son útiles para la asignación de estirpe B o T, dada la frecuente “infidelidad de estirpe”. Es útil la demostración de clonalidad linfoide para apoyar un diagnóstico de proceso linfoproliferativo. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. McGregor S, McNeer J, Gurbuxani S. Beyond the 2008 World Health Organization classification: the role of the hematopathology laboratory in the diagnosis and management of acute lymphoblastic leukemia. *Semin Diagn Pathol* 2012; 29 (1): 2-11.
2. Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood* 2012; 26(3):123-35.
3. Racke FK, Borowitz J. Precursor B- and T-cell neoplasms. En: Jaffe E, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber A. *Hematopathology*. Elsevier 2011, pp. 629-39.
4. Savage NM, Johnson RC, Natkunam Y. The spectrum of lymphoblastic, nodal and extranodal T-cell lymphomas: characteristic features and diagnostic dilemmas. *Hum Pathol* 2013; 44 (4): 451-71.
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (Eds.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition*. IARC: Lyon 2008.

4b. LINFOMAS T GANGLIONARES: LINFOMA T PERIFÉRICO, LINFOMA T ANGIOINMUNOBLÁSTICO, LINFOMA ANAPLÁSICO ALK+ Y ALK-

Autor para la correspondencia: Máximo Fraga (maximo.fraga@usc.es)

Los linfomas T ganglionares constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias, tanto por su patogenia como por sus características histológicas e inmunofenotípicas; habitualmente cursan con una clínica agresiva y pobre respuesta a terapia.

Las cuatro formas más frecuentes de linfomas T ganglionares son el linfoma T periférico no específico, el linfoma T angioinmunoblástico y el linfoma T anaplásico ALK+ y ALK-.

LINFOMA T PERIFÉRICO, NOS

1. DEFINICIÓN:

El linfoma de células T periférico (LCTP) es una neoplasia clonal derivada de células linfoides T maduras. La OMS define la entidad como un grupo heterogéneo de linfomas T, ganglionares y extraganglionares, que no cumplen los criterios diagnósticos de alguna de las otras categorías de linfoma T. Es por tanto un diagnóstico de exclusión en la mayoría de los casos.

El LCTP es más común en poblaciones sin alta incidencia de infección por EBV (Norteamérica y Europa). La presentación es predominantemente ganglionar, pero puede existir extensión extraganglionar; a menudo es una enfermedad diseminada en el momento del diagnóstico. Puede haber incluso presentaciones extraganglionares (piel, tracto gastrointestinal,...), pero en este caso deben descartarse primero entidades específicas. El curso clínico es muy agresivo, con escasa respuesta al tratamiento.

La morfología puede ser extremadamente variable y los subtipos morfológicos no tienen valor pronóstico. Las células neoplásicas pueden ser de tamaño medio-grande, con pleomorfismo, o pequeñas, con núcleos irregulares, en los que la atipia puede ser muy sutil. El patrón de infiltración es habitualmente difuso.

Variante de infiltración de zona T (paracortical). Pueden estar los folículos B preservados.

Acompañamiento vascular e inflamatorio variable. Puede haber histiocitos epitelioides abundantes ("Linfoma de Lennert") o granulomas.

Puede existir proliferación B asociada en el 20% de casos (linfocitos B maduros o células plasmáticas). Es necesario recordar que evidencia de clonalidad B mediante PCR no es criterio suficiente para el diagnóstico de linfoma B, ya que puede detectarse en procesos linfoproliferativos T.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección. **Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestra para diagnóstico).

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de LCTP plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una gran variedad de procesos:

- Otros linfomas
 - Linfoma T angioinmunoblástico
 - Linfoma anaplásico de células grandes
 - Linfomas extranodales T/NK de tipo nasal
 - Linfoma B rico en células T e histiocitos
 - Linfoma de Hodgkin, tanto formas clásicas como de tipo predominio linfocítico
- Linfadenopatías no neoplásicas
 - Hiperplasia linfoide paracortical (zona T)
 - Linfadenitis virales, en particular mononucleosis infecciosa
 - Linfadenitis por fármacos
 - Linfadenopatía dermatopática
 - Linfadenitis por toxoplasma
 - Enfermedades granulomatosas
 - Linfadenitis en el síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS)
 - Linfadenitis de Kikuchi-Fujimoto

El estudio diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina-eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7), línea B (CD20, CD79a) y CD30. La expresión anormal de marcadores T es útil en el reconocimiento de procesos neoplásicos (pérdida de antígenos T, expresión intensa de CD56...). También es conveniente incluir marcadores citotóxicos (TIA1 y/o granzima B y/o perforina). Adicionalmente, en el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta:

- En el diagnóstico diferencial con linfoma T angioinmunoblástico se deben incluir marcadores de células dendríticas foliculares (CD23 y/o CD21) y marcadores de linfocitos TFH ("T follicular helper", como PD1, CD10, BCL6 y/o CXCL13), así como estudio de EBV mediante hibridación in situ para EBER (la inmunohistoquímica para LMP1 tiene numerosos falsos negativos en esta situación).
- En el diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin clásico se deben incluir CD30, CD15 y PAX5 u OCT2.
- En el diagnóstico diferencial con linfoma anaplásico se deben incluir CD30, EMA, ALK.
- En el diagnóstico diferencial con otros linfomas T se deben incluir marcadores inmunofenotípicos adicionales (p. ej., CD56 para linfoma T/NK extraganglionar de tipo nasal o un tipo de linfoma T asociado a enteropatía).
- En muchas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH) como datos coadyuvantes al diagnóstico. La presencia de clonalidad linfoide T en un contexto morfológico y fenotípico apropiado (fenotipo aberrante) favorece el diagnóstico de proceso linfoproliferativo. La presencia de reordenamientos monoclonales de IgH se puede encontrar en un subgrupo de casos de linfoma T, particularmente Linfoma T angioinmunoblástico y linfoma T periférico.

Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (síntomas sistémicos, localización de las lesiones) y del paciente (edad), además de rasgos morfológicos, inmunofenotípicos y moleculares.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ).

Todos los procesos linfoproliferativos T precisan estudio inmunofenotípico completo y, en la mayoría de las ocasiones, estudio molecular complementario.

Panel de primera línea: CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, CD56.

Paneles de segunda línea:

- Marcadores citotóxicos.
- Hibridación in situ para EBERs.
- Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH y linfomas B: dirigidos.
- Ante el diagnóstico diferencial con subtipos específicos de linfomas T, se deben incluir marcadores fenotípicos específicos: PD1, CD10, BCL6, CXCL13, ALK, TCRbF1, TCR Gamma, TIA1, perforina, GZB.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda análisis de clonalidad linfoide T y B (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar.

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo no son necesarios para diagnóstico rutinario. Con frecuencia se detectan alteraciones cariotípicas complejas que ayudan a establecer clonalidad, pero no son significativas para el diagnóstico o pronóstico.

RECOMENDACIONES

1. **Panel de primera línea: CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, CD56. Grado C. Evidencia nivel IV**
2. **Paneles de segunda línea dirigidos (PAX5, CD15, PD1, CD10, CD21, CD23, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCR Gamma, BCL6, CXCL13), hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV**
3. **Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV**

REFERENCIAS:

1. Asano N, Suzuki R, Kagami Y, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of cytotoxic molecule expression in nodal peripheral T-cell lymphoma, unspecified. *Am J Surg Pathol.* 2005;29:1284-1293.
2. Ioachim HL, Ratech H. Ioachim's Lymph Node Pathology. Lippincott Williams and Wilkins, 3rd Edition, 2002.
3. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, World Health Organization Classification of Tumours 2001
4. Savage KJ *Blood Rev.* Peripheral T-cell lymphomas. 2007 Jul;21(4):201-16.
5. Tan BT, Warnke RA, Arber DA. The frequency of B- and T-cell gene rearrangements and epstein-barr virus in T-cell lymphomas: a comparison between angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified with and without associated B-cell proliferations. *J Mol Diagn.* 2006 Sep;8(4):466-75.
6. Warnke RA, Jones D, Hsi ED. Morphologic and immunophenotypic variants of nodal T-cell lymphomas and T-cell lymphoma mimics. *Am J Clin Pathol.* 2007 Apr;127(4):511-27.

7. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorfman RF . Tumors of the Lymph Nodes and Spleen, Atlas of Tumor Pathology, AFIP Third Series, Fascicle 14, 1995

LINFOMA T ANGIOINMUNOBLÁSTICO

1. DEFINICIÓN:

El linfoma T angioinmunoblástico (LTAI) es una neoplasia de probable origen en células T del centro germinal, CD4+, caracterizado por un infiltrado celular polimorfo con una característica proliferación de vénulas de endotelio alto y células dendríticas foliculares.

Se presenta habitualmente como enfermedad sistémica (estadio III/IV) con síntomas constitucionales asociados (fiebre, rash cutáneo prurítico, edema,...), anomalías analíticas (anemia, hipergammaglobulinemia policlonal,...), esplenomegalia y otros desórdenes inflamatorios o autoinmunes (artritis, vasculitis, pleuritis, anemia hemolítica). Pronóstico semejante a LCTP, NOS.

Son criterios diagnósticos:

- Pérdida de la arquitectura ganglionar normal
- Centros germinales atróficos o ausentes.
- Prominente proliferación arborizante de vénulas de endotelio alto.
- Patente seno subcapsular.
- Infiltrado polimorfo paracortical que incluye linfocitos, inmunoblastos, células plasmáticas, histiocitos y eosinófilos. Proliferación de células dendríticas fuera de los centros germinales y alrededor de las vénulas de endotelio alto.
- La población T neoplásica habitualmente está enmascarada y es poco patente: usualmente células de tamaño pequeño o intermedio, con citoplasma claro y contorno nuclear irregular. Con frecuencia agrupadas alrededor de las vénulas.
- Se describe una forma asociada a folículos hiperplásicos con centros germinales reactivos.
- Muchos casos presentan expansión B acompañante, con frecuencia positivas para EBV-EBER El diagnóstico de linfomas B de células grandes asociado requiere la existencia de grandes grupos cohesivos de células B atípicas. El diagnóstico de plasmocitoma requiere grupos extensos de células plasmáticas monoclonales. La evidencia molecular (PCR) de clonalidad B no es suficiente para el diagnóstico de neoplasia B asociada.
- Puede existir proliferación "LH-like" de células de Reed-Sternberg con fenotipo clásico.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección. **Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestra para diagnóstico).

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

- Otros linfomas
 - LCTP
 - Linfomas B, en particular linfoma B de la zona marginal, nodal, y linfoma folicular.
 - Linfoma B rico en células T e histiocitos
 - Linfoma de Hodgkin, tanto formas clásicas como de tipo predominio linfocítico
- Linfadenopatías no neoplásicas
 - Hiperplasia linfoide paracortical (zona T)
 - Linfadenitis virales, en particular mononucleosis infecciosa

- Linfadenitis por fármacos
- Linfadenitis por toxoplasma
- Enfermedad de Castleman, tipo plasmocelular

El diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina-eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide (CD45), línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7) y línea B (CD20, cadenas ligeras kappa y lambda). Se deben incluir también marcadores de células foliculares dendríticas (CD23 y/o CD21), marcadores de linfocitos TFH (PD1, CD10, BCL6 y/o CXCL13), así como estudio de EBV mediante hibridación in situ para EBER (la inmunohistoquímica para LMP1 tiene numerosos falsos negativos en esta situación).

- En el diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin clásico se deben incluir CD30, CD15 y PAX5 u OCT2.
- En el diagnóstico diferencial con linfoma anaplásico se deben incluir CD30 y ALK.
- En el diagnóstico diferencial con otros linfomas T se debe incluir marcadores inmunofenotípicos adicionales.
- En muchas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH).

Estos diagnósticos diferenciales deben tener en cuenta características clínicas de la enfermedad (con especial atención a la presencia de síntomas sistémicos y anomalías analíticas en virtualmente todos los casos) y rasgos morfológicos e inmunofenotípicos.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ).

Todos los procesos linfoproliferativos T precisan estudio inmunofenotípico completo, y en la mayoría de las ocasiones estudio molecular complementario.

Panel de primera línea: CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, cadenas ligeras kappa y lambda, marcadores de células TFH (PD1, CD10, BCL6 y/o CXCL13), marcadores de células foliculares dendríticas (CD23 y/o CD21) e hibridación in situ para EBERs.

Paneles de segunda línea: Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH, otros linfomas T y linfomas B: dirigidos: CD56, PAX5, CD15, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCR Gamma.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda análisis de clonalidad linfoide T y B (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar.

Los estudios citogenéticos y/o de cariotipo no son necesarios para diagnóstico rutinario.

RECOMENDACIONES

1. **Panel de primera línea:** CD20, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD30, PD1, CD10, bcl6, CXCL13, CD23, hibridación in situ para EBV-EBER. Grado C. Evidencia nivel IV
2. **Paneles de segunda línea dirigidos:** CD56, PAX5, CD15, ALK, TIA1, PERFORINA, GZB, TCR bF1, TCR Gamma, ICOS. Grado C. Evidencia nivel IV
3. **Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados.** Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Attygalle A, Al-Jehani R, Diss TC, Munson P, Liu H, Du MQ, Isaacson PG, Dogan A. Neoplastic T cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma express CD10. *Blood*. 2002 Jan 15;99(2):627-33.
2. Bruggemann M, White H, Gaulard P, Garcia-Sanz R, Gameiro P, Oeschger S, Jasani B, Ott M, Delsol G, Orfao A, Tiemann M, Herbst H, Langerak AW, Spaargaren M, Moreau E, Groenen PJ, Sambade C, Foroni L, Carter GI, Hummel M, Bastard C, Davi F, Delfau-Larue MH, Kneba M, van Dongen JJ, Beldjord K, Molina TJ. Pow-

- erful strategy for polymerase chain reaction-based clonality assessment in T-cell malignancies Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4 CT98-3936. *Leukemia*. 2007 Feb;21(2):215-21.
3. Dupuis J, Boye K, Martin N, et al. Expression of CXCL13 by neoplastic cells in angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL): a new diagnostic marker providing evidence that AITL derives from follicular helper T cells. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:490-494.
 4. H. J. Ree, M.D.; M. E. Kadin, M.D.; M. Kikuchi, M.D.; Y. H. Ko, M.D.; J. H. Go, M.D.; J. Suzumiya, M.D.; D. S. Kim, M.D., Ph.D. Angioimmunoblastic lymphoma (AILD-type T-cell lymphoma) with hyperplastic germinal centers. *Am J Surg Pathol*. 1998 Jun;22(6):643-55.
 5. Ioachim HL, Ratech H. Ioachim's Lymph Node Pathology. Lippincott Williams and Wilkins, 3rd Edition, 2002.
 6. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, World Health Organization Classification of Tumours 2001
 7. Kojima M, Nakamura S, Itoh H, Motoori T, Sugihara S, Shinkai H, Masawa N. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma with hyperplastic germinal centers: a clinicopathological and immunohistochemical study of 10 cases. *APMIS*. 2001 Oct;109(10):699-706
 8. Lachenal F, Berger F, Ghesquieres H, Biron P, Hot A, Callet-Bauchu E, Chassagne C, Coiffier B, Durieu I, Rousset H, Salles G. Angioimmunoblastic T-Cell Lymphoma: Clinical and Laboratory Features at Diagnosis in 77 Patients. *Medicine (Baltimore)*. 2007 Sep;86(5):282-292.
 9. Merchant SH, Amin MB, Viswanatha DS. Morphologic and immunophenotypic analysis of angioimmunoblastic T-cell lymphoma: Emphasis on phenotypic aberrancies for early diagnosis. *Am J Clin Pathol*. 2006 Jul;126(1):29-38.
 10. Quintanilla-Martinez L, Fend F, Moguel LR, Spilove L, Beaty MW, Kingma DW, Raffeld M, Jaffe ES. Peripheral T-cell lymphoma with Reed-Sternberg-like cells of B-cell phenotype and genotype associated with Epstein-Barr virus infection. *Am J Surg Pathol*. 1999 Oct;23(10):1233-40.
 11. Tan BT, Warnke RA, Arber DA. The frequency of B- and T-cell gene rearrangements and Epstein Barr virus in T-cell lymphomas: a comparison between angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral T-cell lymphoma, unspecified with and without associated B-cell proliferations. *J Mol Diagn*. 2006 Sep;8(4):466-75.
 12. Warnke RA, Jones D, Hsi ED. Morphologic and immunophenotypic variants of nodal T-cell lymphomas and T-cell lymphoma mimics. *Am J Clin Pathol*. 2007 Apr;127(4):511-27.
 13. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorfman RF. Tumors of the Lymph Nodes and Spleen, Atlas of Tumor Pathology, AFIP Third Series, Fascicle 14, 1995

LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES T ANAPLÁSICO, ALK+ Y ALK-

1. DEFINICIÓN:

El linfoma de células grandes T anaplásico (LCGTA) es una neoplasia sistémica habitualmente compuesta de grupos cohesivos de células grandes atípicas, CD30+, con abundante citoplasma y núcleos pleomórficos.

Alrededor del 70% expresan la kinasa del linfoma anaplásico (ALK1) y constituyen una entidad claramente definida, el LCGTA ALK+. Los casos restantes, LCGTA ALK-, se recogen como una entidad provisional en la clasificación actual de la OMS.

Criterios diagnósticos:

- Grupos cohesivos de células grandes atípicas, CD30+, con abundante citoplasma y núcleos pleomórficos.
- "Hallmark cells": células grandes características con núcleos en U, en C, arriñonados o "en donut", rodeando un área de Golgi eosinófila.
- Frecuente patrón intrasinusoidal y/o distribución perivascular.
- Numerosas variantes morfológicas:
 - Variante común o clásica, con las características antes mencionadas bien patentes
 - Variante de células pequeñas
 - Variante linfocitocítica
 - Variantes ricas en neutrófilos, con células gigantes, con células en "anillo de sello", sarcomatoide, "Hodgkin-like" con esclerosis nodular.
- Inmunofenotipo T o "null".
- Ausencia de marcadores de línea B o inmunofenotipo clásico de LH.
- Inmunopositividad para ALK1 y translocación de ALK presentes por definición en los LCGTA ALK+

Los LCGTA ALK+ son más frecuentes en niños y pacientes jóvenes y presentan mejor pronóstico. Los criterios diagnósticos de los casos ALK1 negativos son controvertidos; en general se admiten como tales aquellos casos que muestran las características morfológicas de la variante común e intensa positividad para CD30, frecuentemente acompañada de EMA. No obstante, en muchos casos se discute su posible clasificación como LCTP, NOS.

La expresión de ALK1 no es exclusiva de LCGTA; otros tumores, entre los que se encuentra un subtipo de linfoma B de células y una variante inhabitual de histiocitosis infantil autolimitada grandes pueden expresarlo.

Además de con afectación ganglionar, el LCGTA puede presentarse también con afectación de localizaciones extraganglionares, tejidos blandos y piel; con menor frecuencia, hueso y tracto gastrointestinal.

La infiltración de médula ósea puede ser muy sutil y siempre requiere estudio inmunohistoquímico para CD30 y ALK1.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto: Es el método de elección. **Punción biopsia con aguja gruesa (BAG):** se puede utilizar en caso de que no se pueda realizar una biopsia incisional/escisional por la situación clínica del paciente. Véase capítulo 1b (Muestra para diagnóstico).

Biopsia-cilindro de médula ósea: Es el método de elección imprescindible para la estadificación de todos los casos. El examen morfológico del aspirado no es suficiente para el diagnóstico en estos casos y se requiere una biopsia cilindro.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

- Carcinoma (debe recordarse la frecuente positividad para EMA del LCGTA)
- Melanoma
- Linfoma B difuso de células grandes ALK+
- Variantes de linfoma B difuso de células grandes con morfología anaplásica (ALK-).
- Formas clásicas de linfoma de Hodgkin, que a veces pueden ser muy ricas en células tumorales
- Linfoma de células grandes anaplásico, primario cutáneo.

El diagnóstico inicial debe incluir un estudio morfológico adecuado con hematoxilina-eosina (HE). El panel inmunofenotípico básico debe incluir marcadores de línea linfoide, línea T (CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7), línea B (CD20, PAX5), CD30, EMA y ALK.

En algunas ocasiones se precisa el análisis de clonalidad linfoide T (reordenamientos de TCR) y B (reordenamientos de IGH).

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ).

Panel de primera línea: CD45, CD43, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD20, PAX5, CD30, EMA, ALK1.

Paneles de segunda línea: Marcadores citotóxicos (TIA1 y/o Granzima B o perforina). Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH y linfomas B

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Sólo el LCGTA ALK+ muestra características citogenéticas distintivas. La expresión inmunohistoquímica de ALK1 que lo define se correlaciona con una translocación del gen ALK, que puede mostrar diversas variantes. La demostración formal de la traslocación es mediante FISH con sondas de tipo BA.

La translocación más frecuente en el LCGTA ALK+ es la t(2;5) (alrededor del 80% de los casos), que involucra a los genes ALK y NPM ("nucleophosmin"). Dicha translocación se asocia con una positividad de ALK1 de distribución nuclear y citoplasmática.

En aproximadamente un 20% de casos el reordenamiento de ALK es diferente y se asocia con una positividad de ALK1 fundamentalmente citoplasmática (p. ej., t(1;2), que produce la fusión TPM3-ALK).

No se precisa en la mayoría de los casos análisis de clonalidad linfoide (reordenamientos de TCR e IGH) mediante PCR y electroforesis capilar, excepto en los casos con fenotipo "nulo" y para descartar neoplasias B.

RECOMENDACIONES

1. Recordar que no todos los LCGAT ALK+ muestran la gran cantidad de células "hallmark" típicas de la variante clásica. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Panel de primera línea: CD45, CD43, CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7, CD20, PAX5, CD30, EMA, ALK1. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Paneles de segunda línea dirigidos (marcadores citotóxicos). Paneles específicos para diagnóstico diferencial con LH y linfomas B. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Estudios de clonalidad linfoide B y T mediante PCR y electroforesis capilar en casos seleccionados. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Los casos ALK1 negativos siempre representan un diagnóstico controvertido. En esta situación puede ser recomendable remitir el caso a hematopatólogos experimentados. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS:

1. Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L, et al. ALK-positive lymphoma: a single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood*. 1998;91:2076–2084
2. d'Amore ES, Menin A, Bonoldi E, Bevilacqua P, Cazzavillan S, Donofrio V, Gambini C, Forni M, Gentile A, Magro G, Boldrini R, Pillon M, Rosolen A, Alaggio R. Anaplastic large cell lymphomas: a study of 75 pediatric patients. *Pediatr Dev Pathol*. 2007 May-Jun;10(3):181-91.
3. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW eds. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, World Health Organization Classification of Tumours 2001.
4. Kesler MV, Paranjape GS, Asplund SL, McKenna RW, Jamal S, Kroft SH. Anaplastic large cell lymphoma: a flow cytometric analysis of 29 cases. *Am J Clin Pathol*. 2007 Aug;128(2):314-22.

5. Medeiros LJ and KSJ Elenitoba-Johnson. Anaplastic Large Cell Lymphoma. Am J Clin Pathol 2007;127:707-722
6. Warnke RA, Weiss LM, Chan JKC, Cleary ML, Dorfman R. Tumors of the Lymph Nodes and Spleen, Atlas of Tumor Pathology, AFIP Third Series, Fascicle 14, 1995.

4c. LINFOMAS T EXTRAGANGLIONARES NO CUTÁNEOS

LEUCEMIA DE LINFOCITOS GRANDES GRANULARES, LEUCEMIA PROLINFOCITICA, LINFOMA HEPATOESPLENICO, LEUCEMIAS NK, LINFOMAS ENTEROPATICOS Y SINDROMES LINFOPROLIFERATIVOS T PEDIATRICOS ASOCIADOS A VEB.

Autor para la correspondencia: Antonio Martínez (ANTONMAR@clinic.ub.es)

1. DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

En este capítulo no se describe una sola entidad, sino un grupo de síndromes linfoproliferativos de presentación extranodal y que aunque pueden afectar la piel no son primariamente cutáneos. Las entidades clínico-patológicas incluidas en este capítulo son muy poco frecuentes representando entre el 2-5% de los síndromes linfoproliferativos y el diagnóstico preciso es importante por las implicaciones pronosticas y terapéuticas que conlleva. Como en todos los linfomas T, la forma de presentación clínica forma parte esencial de la definición de la entidad y debe orientar todo el proceso diagnóstico. Así, la presencia de una marcada hepatoesplenomegalia es característica de la leucemia prolinfocítica T y del linfoma T hepatoesplénico mientras que la leucemia de linfocitos grandes granulares se manifiesta con baja carga tumoral sin organomegalia o con una esplenomegalia leve, citopenias y frecuentemente asociada a enfermedad autoinmune. La presencia de adenopatías junto con afectación cutánea, en este contexto, favorecería el diagnóstico de leucemia prolinfocítica T o de una leucemia linfoma T del adulto. La afectación de sangre periférica, con linfocitosis, es común a la leucemia prolinfocítica T, la leucemia de linfocitos grandes granulares, las formas aguda y crónica de las leucemia/linfoma T del adulto y a los procesos derivados de linfocitos NK mientras que es excepcional en el linfoma T hepatoesplénico y en el enteropático; en este último es característica la presencia de enteropatía, especialmente en enfermos celíacos. La hipercalcemia es típica de la leucemia/linfoma T del adulto. El origen geográfico del paciente puede ser también útil en la aproximación al diagnóstico. Así, los síndromes linfoproliferativos T de la infancia, se observan fundamentalmente en niños de Asia y América del Sur (especialmente en Méjico) mientras que la leucemia linfoma T del adulto es más frecuente en pacientes emigrantes de Japón, Caribe, América del Sur (Chile y Brasil principalmente), África central e Irán. No obstante los movimientos migratorios recientes influyen en la distribución de estas entidades, las cuales pueden también afectar a pacientes que no proceden de esas áreas geográficas.

Por la complejidad del diagnóstico y el tratamiento de este grupo de neoplasias, la recomendación es que ante la sospecha de que nos enfrentamos a un proceso de este grupo, el diagnóstico debe realizarse en un centro con experiencia y con posibilidad de realizar un estudio completo genético, inmunofenotípico y molecular, y que preferentemente disponga de experiencia en el tratamiento de estos pacientes.

2. TIPO DE MUESTRA

El tipo de muestra adecuada para el diagnóstico depende de la forma de presentación de la enfermedad. El estudio citomorfológico e inmunofenotípico por citometría de flujo de los linfocitos en sangre periférica y médula ósea, y la biopsia de médula ósea con inmunohistoquímica son mandatorios, en especial en las formas con linfocitosis y en los que no disponemos de una muestra tisular tal como el bazo para el estudio histológico. Mientras que en la leucemia prolinfocítica T, la infiltración medular suele ser difusa o mixta

(nodular e intersticial), en la leucemia de linfocitos granulares y el linfoma hepatoesplénico es predominantemente intrasinusoidal. En estas dos últimas entidades y en especial en la leucemia de linfocitos granulares la infiltración puede ser mínima por lo que el estudio inmunohistoquímico es esencial para ponerla de manifiesto. Aunque la esplenectomía se realiza en algunos pacientes con fines diagnósticos y terapéuticos y la histología esplénica permite diferenciar claramente la leucemia prolinfocítica T de la leucemia de linfocitos granulares, no siempre se dispone de ella. La afectación cutánea se halla presente en el 40% de casos de leucemia/linfoma T del adulto y hasta el 25% de leucemias prolinfocíticas T. La biopsia cutánea puede ser de ayuda en el diagnóstico diferencial ya que permite distinguir la leucemia prolinfocítica T de linfomas cutáneos T, especialmente del síndrome de Sézary, puesto que en la primera no se aprecia nunca epidermotropismo. Sin embargo, el 50% de casos de leucemia/linfoma T del adulto muestra epidermotropismo y en estos casos, la biopsia cutánea por sí sola no permite distinguirla de linfomas primarios cutáneos T. El estudio serológico para el virus HTLV-1 es mandatorio para establecer el diagnóstico de leucemia/linfoma T del adulto y se recomienda éste en todos los pacientes emigrantes de zonas endémicas para este retrovirus a los que se diagnostica de linfoma T en la piel o de linfoma T periférico en el ganglio linfático. El título de inmunoglobulinas frente antígenos del virus de Epstein-Barr (EBV), o la carga viral en suero, además del estudio de hibridación in situ para el RNA del virus en el tejido son imprescindibles en el diagnóstico de los síndromes linfoproliferativos pediátricos asociados a EBV así como en el de los linfomas T/NK y las leucemias agresivas de células NK, que a diferencia de las proliferaciones crónicas de células NK son con frecuencia EBV positivas.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico diferencial de estos procesos se plantea esencialmente con proliferaciones reactivas y con otros síndromes linfoproliferativos T.

1. *Linfadenitis reactivas*

Algunas formas de presentación pueden imitar un proceso reactivo. La leucemia prolinfocítica, cuando afecta el ganglio, puede remedar un patrón de hiperplasia parafolicular preservando los folículos linfoides. Por ello es esencial disponer de información clínica y del análisis morfológico e inmunofenotípico de los linfocitos de sangre periférica.

De igual manera, los síndromes linfoproliferativos T del niño asociados a EBV pueden preservar exquisitamente la arquitectura del ganglio o de la amígdala. En estos casos, sólo la hibridación in situ para EBERs del EBV destaca una masiva proliferación perifolicular de células T positivas para este virus.

2. *Dermatitis reactivas*

La leucemia/linfoma T del adulto en su forma indolente o "smoldering" puede manifestarse con un "rash" cutáneo exfoliativo con infiltración linfoide muy poco atípica citológicamente que puede confundirse con un proceso inflamatorio o si muestra epidermotropismo con un linfoma T primario cutáneo especialmente con la afectación cutánea por el Síndrome de Sézary o una Micosis Fungoides.

3. *Mucositis reactivas*

El diagnóstico del linfoma T/NK nasal se retrasa frecuentemente porque las biopsias muestran solo tejido necrótico desvitalizado o material fibrinoleucocitario, dado que las lesiones son altamente angioinvasivas y producen necrosis. Sólo biopsias profundas pueden demostrar la lesión diagnóstica característica sobre tejido viable.

4. *Otros síndromes linfoproliferativos*

La leucemia/linfoma T del adulto en su forma linfomatosa puede presentar una histología ganglionar que no puede distinguirse de los linfomas periféricos T NOS.

Asimismo, la biopsia de médula ósea en la leucemia de linfocitos granulares puede mostrar además de la infiltración leucémica intrasinusoidal o intersticial, nódulos linfoides reactivos compuestos en su mayoría por linfocitos pequeños B CD20+ que pueden dar lugar a un diagnóstico erróneo de linfoma B de bajo grado.

5. Síndromes linfoproliferativos de infiltración intrasinusoidal

La infiltración intrasinusoidal en una biopsia hepática afecta por linfoma T hepatoesplénico puede ser sutil, con mínima atipia citológica sobre un hígado que muestra la arquitectura preservada. De igual forma, la infiltración intrasinusoidal en el bazo o en la médula ósea de una leucemia de linfocitos grandes granulares o una leucemia crónica de células NK pueden pasar desapercibidas a un patólogo no experto si no se realiza un estudio inmunohistoquímico completo. El estudio de clonalidad del receptor de células T (RCT) mediante técnicas de PCR es mandatorio para descartar proliferaciones de linfocitos granulares reactivas y confirmar el diagnóstico de leucemia ya que las características citológicas e inmunofenotípicas son muy similares en los procesos clonales y los reactivos. Recientemente se han descrito procesos NK indolentes del tracto gastrointestinal que no deben ser confundidos con linfomas NK. Por todo ello, es imprescindible una correcta sospecha clínica en el momento de interpretar la biopsia. Todo caso discordante debería ser revisado por un experto.

4. PANELES DE IHQ

El abordaje de las neoplasias linfoides T requiere de un número amplio de marcadores, algunos de los cuales solo están disponibles para técnicas de citometría de flujo. En general, el poder definir la línea linfocítica vs NK; linfocítica T CD8+, CD4+ o doble negativo o doble positivo ayuda a orientar el proceso. La expresión de cadenas del TCR en superficie o citoplasma excluye línea NK, aunque algunos linfomas de tipo NK nasal pueden tener un genotipo y fenotipo T. En los últimos años disponemos de anticuerpos que funcionan en tejido parafinado para identificar células T alfa/beta y gamma/delta. Otros marcadores imprescindibles son CD25, CD56, CD57 y anticuerpos que detectan las granulaciones citotóxicas (TIA-1, Granzima B, Perforina). Además es imprescindible el uso de hibridación para EBER que, en la mayoría de los casos, no es reemplazable por otros antígenos de latencia del EBV como la proteína LMP1.

En la Tabla 1 se describen los anticuerpos disponibles para tejido en parafina y en la Tabla 2 se resumen las características inmunofenotípicas de los diversos procesos linfoproliferativos T incluidos en este capítulo.

Tabla 1. Lista de marcadores que pueden aplicarse en tejido en parafina para el diagnóstico de linfomas T, NK y T/NK

Grupo	Marcadores
Célula T	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD52, TCRBeta, TCRGamma, TCRdelta
Citotóxico	TIA1, granzima B, perforina
Treg	FoxP3, CD25, CD152
NK	CD16, CD56, CD57
IEL*	CD103
Th1	T-Bet
Th2	GATA3
Activación	CD25, CD30
Proliferación	Ki67
EBV	EBER ISH (hibridación in situ), LMP1, EBNA2

*IEL: linfocitos intraepiteliales (Intraepithelial lymphocyte).

Tabla 2 Resumen de las características inmunofenotípicas

Entidad	CD3	CD5	CD7	CD4	CD8	CD25	CD16	CD56	CD57	CD52	Gránulos	TCR	EBER
PLL*	+	+	+	+60%	+15%	+25%	-	-	-	+	-	αβ	-
LGL**	+	+/-	+/-	-	+85%	-	+	-/+	+	+	activados	αβ	-
cNK***	+citop	-	-	-	+/-	-	+	+	-	?	activados	-	-
aNK	+citop	-	-	-	-	-	+debil	+	+	?	activados	-	+
NK/T***	+citop	-	?	-	-	+30%	-/+	+	-/+	+25%	activados	-	+
EBV-TLPD pediátrico	+	+	-/+	-	+	-/+	+/-	-	-	?	Tia-1	αβ	+
HSTL	+	-	-	-	-/+	-	+	+/-	-	-/+	incompleto	γδ>αβ	-/+
ATLL	+	+	-	+	-	+	+/-	+/-	+/-	+	-	αβ	-
EATL tipo I	+	+	-	-	+	+25%	+/-	+	+/-	?	activados	αβ	-

* Coexpresión de CD4 y CD8 en el 25% de los casos y ausencia de expresión de CD3 y RCT en la membrana en el 20% de los casos. Una expresión elevada de Tcl-1 es frecuente pero no exclusiva de esta enfermedad

** Expresan gránulos citotóxicos TIA-1, granzima B y perforina independientemente de que la proliferación sea de linfocitos CD8+ o la menos frecuente CD4+

*** Expresan gránulos citotóxicos TIA-1, perforina y Granzima B

5. ESTUDIO CITOGÉNICO/MOLECULAR

El estudio de clonalidad es de gran utilidad en las neoplasias linfoides T dada la ausencia de algún marcador subrogado por inmunohistoquímica, similar a las cadenas ligeras en los linfomas B, que pueda usarse en la rutina diagnóstica. Un inmunofenotipo aberrante con pérdida de expresión de antígenos T es sugestivo pero no definitivo de un proceso clonal. En las proliferaciones de linfocitos granulares deberá determinarse siempre la clonalidad mediante el análisis del reordenamiento de las cadenas Beta o Gamma del RCT mediante PCR. Mediante citometría de flujo, la expresión de un mismo receptor de tipo inhibidor de células NK (KIR) se puede usar como sinónimo de clonalidad en la leucemia de linfocitos granulares T y NK aunque solo permite obtener información en una proporción de casos. Recientemente mutaciones de STAT3 se han implicado en la patogénesis de la leucemia de linfocitos granulares T y NK hallándose presente en alrededor del 20-23% de pacientes. Hay alteraciones genéticas características y recurrentes en algunos de estos procesos en especial en la leucemia prolinfocítica T que muestra alteraciones recurrentes tales como inv(14)(q11;q32) que involucra el reordenamiento del oncogén *TCL1* (80% casos) e iso(8q) (60% de casos). Si bien la citogenética o FISH no son imprescindibles en casos francamente leucémicos y con morfología típica de prolinfocítica T, sí que son de ayuda y corroboran el diagnóstico en las variantes morfológicas y/o en formas de bajo voltaje de leucemia prolinfocítica. La presencia de isocromosoma 7 que puede estudiarse mediante técnica de FISH en parafina puede sustentar el diagnóstico de linfoma T hepatoesplénico. Estos estudios sólo están disponibles en unidades de diagnóstico hematopatológico especializado.

RECOMENDACIONES.

1. El grupo de neoplasias que se discuten en este capítulo son entidades clínico-patológicas muy poco frecuentes que requieren para su diagnóstico definitivo la integración de datos clínicos y de laboratorio y de unidades de hematopatología expertas en estos procesos y con gran variedad de técnicas disponibles. Grado C. Evidencia nivel IV
2. El informe final del patólogo debe incluir una descripción detallada de la citología, patrón de infiltración tisular, inmunofenotipo y a ser posible anomalías genéticas/moleculares, especialmente en casos problemáticos con dificultades para establecer un diagnóstico final. Grado C. Evidencia nivel IV

3. **Es recomendable referir las muestras a centros de referencia nacionales con experiencia en este tipo de enfermedades en fases iniciales del proceso para un diagnóstico y manejo adecuado del paciente. Grado C. Evidencia nivel IV**

* Los autores desean agradecer a los Dres Blanca González y Estella Matutes su colaboración en la redacción de este capítulo.

REFERENCIAS

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Garcia-Herrera A, Song JY, Chuang SS, Villamor N, Colomo L, Pittaluga S, Alvaro T, Rozman M, de Anda Gonzalez J, Arrunategui AM, Fernandez E, Gonzalvo E, Estrach T, Colomer D, Raffeld M, Gaulard P, Campo E, Jaffe ES, Martinez A. Nonhepatosplenic $\gamma\delta$ T-cell lymphomas represent a spectrum of aggressive cytotoxic T-cell lymphomas with a mainly extranodal presentation. *Am J Surg Pathol*. 2011 Aug;35(8):1214-25. doi:10.1097/PAS.0b013e31822067d1. PubMed PMID: 21753698; PubMed Central PMCID: PMC3136885.
3. Osuji N, Beiske K, Randen U, Matutes E, Tjonnfjord G, Catovsky D, Wotherspoon A. Characteristic appearances of the bone marrow in T-cell large granular lymphocyte leukaemia. *Histopathology*. 2007 Apr;50(5):547-54. PubMed PMID:17394489.
4. Osuji N, Matutes E, Catovsky D, Lampert I, Wotherspoon A. Histopathology of the spleen in T-cell large granular lymphocyte leukemia and T-cell prolymphocytic leukemia: a comparative review. *Am J Surg Pathol*. 2005 Jul;29(7):935-41. Review. PubMed PMID: 15958859.
5. Jerez A1, Clemente MJ, Makishima H, Koskela H, Leblanc F, Peng Ng K, Olson T, Przychodzen B, Afable M, Gomez-Segui I, Guinta K, Durkin L, Hsi ED, McGraw K, Zhang D, Wlodarski MW, Porkka K, Sekeres MA, List A, Mustjoki S, Loughran TP, Maciejewski JP. STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 2012 Oct 11;120(15):3048-57. doi: 10.1182/blood-2012-06-435297. Epub 2012 Aug 2
6. Dungarwalla M, Matutes E, Dearden CE. Prolymphocytic leukaemia of B- and T-cell subtype: a state-of-the-art paper. *Eur J Haematol*. 2008 Jun;80(6):469-76. doi: 10.1111/j.1600-0609.2008.01069.x. Epub 2008 Mar 10. Review. PubMed PMID:18331594.
7. Asano N, Kato S, Nakamura S. Epstein-Barr virus-associated natural killer/T-cell lymphomas. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013 Mar;26(1):15-21. doi:10.1016/j.beha.2013.04.002. Epub 2013 May 25. Review. PubMed PMID: 23768637.
8. Suzuki R, Takeuchi K, Ohshima K, Nakamura S. Extranodal NK/T-cell lymphoma: diagnosis and treatment cues. *Hematol Oncol*. 2008 Jun;26(2):66-72. doi:10.1002/hon.847. Review. PubMed PMID: 18283711.
9. Semenzato G, Marino F, Zambello R. State of the art in natural killer cell malignancies. *Int J Lab Hematol*. 2012 Apr;34(2):117-28. doi:10.1111/j.1751-553X.2011.01374.x. Epub 2011 Sep 6. Review. PubMed PMID: 21895989.
10. Ohshima K. Pathological features of diseases associated with human T-cell leukemia virus type I. *Cancer Sci*. 2007 Jun;98(6):772-8. Epub 2007 Mar 27. Review. PubMed PMID: 17388788.

11. Matutes E. Adult T-cell leukaemia/lymphoma. *J Clin Pathol*. 2007 Dec;60(12):1373-7. Review.
12. Vega F, Medeiros LJ, Gaulard P. Hepatosplenic and other gammadelta T-cell lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2007 Jun;127(6):869-80. PubMed PMID: 17509984.
13. Wlodarska I, Martin-Garcia N, Achten R, De Wolf-Peeters C, Pauwels P, Tulliez M, de Mascarel A, Brière J, Patey M, Hagemeyer A, Gaulard P. Fluorescence in situ hybridization study of chromosome 7 aberrations in hepatosplenic T-cell lymphoma: isochromosome 7q as a common abnormality accumulating in forms with features of cytologic progression. *Genes Chromosomes Cancer*. 2002 Mar;33(3):243-51. PubMed PMID: 11807981.
14. Swerdlow SH, Jaffe ES, Brousset P, Chan JK, de Leval L, Gaulard P, Harris NL, Pileri S, Weiss LM; International Lymphoma Study Group. Cytotoxic T-cell and NK-cell lymphomas: current questions and controversies. *Am J Surg Pathol*. 2014 Oct;38(10):e60-71. doi: 10.1097/PAS.0000000000000295. Review. PubMed PMID:25025449.

5. LINFOMAS PRIMARIOS CUTÁNEOS.

Autor para la correspondencia: *María Rodríguez Pinilla* (smrodriguez@fjd.es)

DEFINICIÓN Y ENTIDADES A CONSIDERAR.

Linfoma primario cutáneo es el que infiltra de forma primaria la piel. Tanto los linfomas B como los linfomas T sistémicos pueden infiltrar secundariamente la piel y adoptar cualquier patrón morfológico de infiltración por lo que siempre deben ser excluidos mediante un adecuado estudio clínico.

LINFOMAS T PRIMARIOS CUTÁNEOS.

Representan el 70% de los linfomas primarios cutáneos, siendo la micosis fungoides (MF) y sus variantes el tipo más frecuente (~40%) (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los linfomas T y NK primario cutáneos según la WHO-EORTC. *La frecuencia dada se refiere a la totalidad de los linfomas primarios cutáneos B y T.

Linfomas T/NK primario cutáneos	Frecuencia (%)*
Curso clínico indolente:	
Micosis fungoides	44
Subtipos y variantes de Micosis fungoides	6
Linfoma primario cutáneo de linfocitos T CD4-positivos de pequeño-mediano tamaño	1
Linfoma NK/T tipo hydroa vacciniforme	2
Desordenes linfoproliferativos CD30+ primario cutáneos	<1
- Linfoma anaplásico de células grandes CD30+ primario cutáneo	8
- Papulosis Linfomatoide.	12
Curso clínico agresivo:	
Síndrome de Sézary	3
Linfoma primario cutáneo de células NK/T de tipo nasal	<1
Linfoma T citotóxico CD8-epidermotropo agresivo primario cutáneo	<1
Linfoma T primario cutáneo gamma/delta	<1
Linfoma T periférico no especificado primario cutáneo	2

A1. MICOSIS FUNGOIDES (MF).

El diagnóstico de MF debe restringirse a aquellos pacientes que cursen con historia de lesiones en forma de mancha, placa y finalmente en algunos casos nódulos/tumores. Es más frecuente en adultos, generalmente varones, aunque se ha descrito en niños. El curso clínico es variable, aunque por lo general, prolongado produciéndose ocasionalmente en estadios avanzados afectación ganglionar y visceral (hígado, bazo, pulmón y sangre periférica, principalmente).

Histológicamente se caracteriza por un infiltrado epidermotropo de linfocitos pequeños con escasa atipia citológica que forman cúmulos intraepidérmicos (abscesos de Pautrier). Los linfocitos tumorales suelen expresar CD4 y en la mayoría de los casos hay pérdida de CD7. Se han descrito casos con expresión de CD8, que suelen presentarse en forma de manchas o placas hipo o hiperpigmentadas así como casos con expresión de CD56, TCRgamma y otros con ausencia de expresión de CD4 y CD8. Estos subtipos inmunofenotípicos no suelen presentar diferente comportamiento biológico.

En estadios iniciales el infiltrado linfoide se dispone principalmente en banda en dermis superficial y tanto la atipia citológica como el epidermotropismo pueden ser muy sutiles haciendo muy complicado el diagnóstico. No suele observarse pérdida de expresión de marcadores T ni reordenamientos clonales del gen TCR. A medida que las lesiones se vuelven más tumorales, se pierde el epidermotropismo, el infiltrado dérmico es más denso y difuso y disminuye el componente de células reactivas mientras que las tumorales

aumentan en número. Puede observarse transformación histológica, definida como la presencia de más de un 25% de células grandes de aspecto blástico. Estas células pueden ser CD30-positivas o CD30-negativas. Esto es más común en fases tumorales de MF. Puede adquirirse la expresión de marcadores citotóxicos. En casos de positividad para CD30 se requiere hacer el diagnóstico diferencial con otras entidades del espectro de los desórdenes linfoproliferativos cutáneos CD30 positivos.

VARIANTES DE MF.

- **MF foliculotropía:** No siempre se observa mucinosis folicular. Se asocia a curso clínico más agresivo.
- **MF granulomatosa:** Se asocia con granulomas de tipo sarcoideo o con patrones de infiltración tipo granuloma anular. Las células multinucleadas gigantes destruyen y fagocitan las fibras elásticas. No siempre se observa epidermotropismo (50%). Curso clínico más agresivo que la variante clásica.
- **Síndrome de piel laxa granulomatosa:** Histológicamente es indistinguible de la MF granulomatosa y se caracteriza por la aparición de una piel laxa y colgante en los grandes pliegues cutáneos y por un curso clínico muy benigno.
- **Reticulosis pagetoide:** El término se restringe a lesiones únicas en placa de crecimiento lento y progresivo. Se observa un llamativo epidermotropismo por linfocitos con halo claro. Se han descrito casos con expresión de CD4, CD8 e incluso CD30. El pronóstico es muy bueno.

A2. SÍNDROME DE SÉZARY (SS).

Es una forma rara de linfoma T primario cutáneo (representa el 3% de todos los linfomas primario cutáneos). Se caracteriza clínicamente por la presencia de eritrodermia, alopecia, hiperqueratosis palmo-plantar y linfadenopatías. Tan sólo en un 40% de los casos se observan imágenes de linfocitos atípicos con epidermotropismo por lo que la biopsia cutánea no siempre es del todo útil para el diagnóstico. La mayoría de los autores coinciden en que es necesaria la presencia de >1000 células atípicas con núcleos cerebriformes (células de Sézary o células de Lutzner) en sangre periférica para hacer el diagnóstico de SS; si bien, aún no existen criterios diagnósticos consensuados. El pronóstico es muy malo, con una supervivencia media de 2-4 años.

A3. PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS PRIMARIO CUTÁNEOS CD30-POSITIVOS.

Incluye un espectro clinicopatológico en el que la clasificación de la WHO-EORTC reconoce tres subgrupos:

- **El linfoma anaplásico de células grandes primario cutáneo.**
- **La papulosis linfomatoide**
- **Lesiones mal definidas entre estas dos entidades (“lesiones borderline”).**

A3A. LINFOMA ANAPLÁSICO DE CÉLULAS GRANDES PRIMARIO CUTÁNEO (LAGPC).

Aparece principalmente en pacientes varones adultos, aunque está descrita en niños. Normalmente se trata de una lesión única o de lesiones múltiples localizadas en forma de pápulas o nódulos que frecuentemente se ulceran. A veces regresan espontáneamente tras un periodo medio de 2 meses (23-44% de los casos). Ocasionalmente pueden presentar recidivas cutáneas (~39% de los casos). La presencia de lesiones multifocales se ha descrito en el 20% de los pacientes. La afectación ganglionar locorregional se observa en un 10% de los casos y no parece tener implicaciones pronósticas. El pronóstico es muy bueno, con una supervivencia global a los 5 años del 76-96%.

Morfológicamente se caracterizan por una proliferación difusa de células grandes anaplásicas que afecta la dermis y en muchas ocasiones el tejido celular subcutáneo con expresión de CD30 en más de un 75% de las mismas. Es rara la presencia de epidermotropismo. El infiltrado linfo-leucocitario reactivo acompañante es muy escaso.

La mayoría de los casos expresa CD4 y marcadores citotóxicos (TIA-1, granzima, perforina) y suelen perder CD2, CD5, CD7 y/o CD3. Un 5% de los casos expresa CD8. De forma ocasional se han descrito casos doble CD4/CD8 negativos.

A3B. PAPULOSIS LINFOMATOIDE (PL).

La PL se define como un proceso crónico, recurrente y autolimitado de afectación cutánea y en ocasiones de mucosas constituido por una proliferación de células grandes, anaplásicas, de aspecto inmunoblástico o de tipo Hodgkin con abundante infiltrado inflamatorio. Aparece principalmente en adultos de sexo masculino aunque también ha sido descrita en niños. Clínicamente se caracteriza por la aparición en brotes de múltiples pápulas, o nódulos, en tronco y extremidades en diferentes estadios evolutivos (pápula, necrosis, escara) que regresan espontáneamente tras 3-12 semanas dejando cicatrices hiperpigmentadas.. Se han descrito varios patrones de infiltración cutáneas que definen los distintos tipos (A-E).

A4. LINFOMA T SUBCUTÁNEO DE TIPO PANICULÍTICO (LTSP).

Puede aparecer en adultos o niños, frecuentemente mujeres. Se caracteriza por la aparición de nódulos o placas únicas o múltiples generalmente en tronco y extremidades. Se ulceran con frecuencia. Es rara la afectación extracutánea. Es frecuente la aparición de síntomas sistémicos aunque el síndrome hemofagocítico (SHF) solo ocurre en un 15% de los casos. Un 20% de los pacientes presentan algún tipo de enfermedad autoinmune, especialmente lupus eritematoso sistémico. El curso clínico es, por lo general, poco agresivo, especialmente si no presentan SHF.

Histopatológicamente es una proliferación exclusivamente subcutánea por células neoplásicas de diferente tamaño y atipia citológica que se disponen alrededor de adipocitos de forma individual. Es frecuente la necrosis, la cariorrexis y la presencia de histiocitos.

El estudio IHQ muestra una proliferación de linfocitos T-citotóxicos frecuentemente CD8 que expresan fenotipo TCR $\alpha\beta$ (TCRBF1 mediante IHQ) y que, con frecuencia muestran un alto índice proliferativo (Ki67) en torno a vacuolas adiposas. Es poco frecuente la positividad con CD30 o CD56.

A5. LINFOMA T GAMMA-DELTA PRIMARIO CUTÁNEO (LTGDPC).

Suelen debutar en forma de placas, nódulos o tumores úlcero-necróticos diseminados o en miembros inferiores en pacientes adultos añosos sin predilección de sexo. La afectación mucosa es frecuente. Es frecuente una rápida diseminación sistémica, aunque la afectación ganglionar y de la médula ósea es rara. Suelen presentar síntomas sistémicos y SHF, especialmente los pacientes con tumores con predominio de afectación paniculítica. Es un linfoma altamente resistente a la poliquimioterapia con muy mal pronóstico, especialmente los casos con afectación del tejido celular subcutáneo. La supervivencia media es inferior a 15 meses.

El patrón de afectación puede ser dérmico, intraepidérmico o subcutáneo. Dichos patrones pueden aparecer individualmente o en combinación. Las células tumorales también pueden presentar distintos grados de atipia morfológica.

Las células tumorales expresan CD3, TCR $\gamma\delta$ (TCR gamma y/o TCR delta mediante IHQ) y marcadores citotóxicos. La presencia de CD56 es frecuente. Suelen ser CD4/CD8 doble negativos o CD8-positivos.

A6. LINFOMA T CITOTÓXICO CD8-EPIDERMOTROPICO AGRESIVO PRIMARIO CUTÁNEO (LTC-CD8EA-PC). Entidad provisional según la OMS.

Suele aparecer en forma de placas, pápulas, nódulos o tumores generalizados con frecuente ulceración. Suele afectar adultos sin predilección de sexo. El curso clínico es agresivo y suele metastatizar en mucosa oral, testículo, bazo, pulmón o SNC con poca afectación ganglionar. La supervivencia media es inferior a 3 años.

Las lesiones tempranas suelen presentar un patrón de infiltración intraepidérmico de tipo pagetoide. En las lesiones establecidas hay epidermotropismo marcado con necrosis de queratinocitos, espongiosis y ulceración. Suele observarse un patrón liquenoide y en banda en dermis superficial con frecuente destrucción de anejos pero sin angioinvasión, angiodestrucción o afectación de fascículos nerviosos. Se observa frecuente afectación de panículo adiposo.

Las células tumorales suelen expresar CD3, CD8, CD5, CD7, TCRBF1, TIA1. Suelen ser negativos con CD2, CD30, perforina y granzima. No se observa expresión de TCRGamma ni EBV-EBER.

A7. LINFOMA T/NK EXTRAGANGLIONAR DE TIPO NASAL.

Suele presentarse como múltiples placas o tumores, generalmente ulceradas en tronco y extremidades. Los pacientes son adultos, generalmente añosos y es más frecuente en individuos varones que provienen de Asia, Centro América o América del Sur. Se ha descrito de forma excepcional en niños. Suele presentar síntomas sistémicos y frecuentemente SHF.

Las células tumorales son de tamaño y morfología variable. Se disponen generalmente de forma difusa en dermis y tejido celular subcutáneo, aunque también pueden presentar epidermotropismo. Es muy característica la presencia de angiodestrucción con extensas áreas de necrosis. En ocasiones se observa abundantes células acompañantes de carácter reactivo constituidas por leucocitos, histiocitos y plasmáticas.

Las células neoplásicas son característicamente citotóxicas y expresan EBV-EBER. Suelen presentar expresión de CD3 citoplasmático y CD56 y no suelen expresar CD4 ni CD8. La expresión de TCRBF1 y TCR gamma es variable y de significado clínico impreciso en este grupo.

A8. LINFOMA T/NK DE TIPO HYDROA-VACCINIFORME.

Forma parte del espectro de lesiones relacionadas con infección crónica por EBV y se relaciona con hipersensibilidad a picaduras de insectos. Se presenta en niños de origen asiático, México, centro América y América del sur. Se caracteriza por la presencia de lesiones en forma de vesículas que evolucionan a papulas, se ulceran y dejan cicatriz residual. Tienen un curso clínico autoresolutivo y recurrente durante mucho tiempo hasta que finalmente desarrollan afectación sistémica por linfoma. La afectación cutánea ocurre en áreas foto y no fotoexpuestas. Las lesiones mucosas son frecuentes. Se asocian síntomas generales, fiebre, aumento de títulos de IgG frente a EBV y edema facial.

El fenotipo T es más frecuente (75% de los casos), presenta más síntomas sintémicos y se asocia a mayor agresividad de las lesiones cutáneas. El fenotipo NK (25% de los casos) aparece en pacientes más jóvenes, presenta un curso clínico más indolente pero mayor tendencia al desarrollo de linfomas NK de tipo nasal y leucemias NK.

El patrón histopatológico es variable con infiltración intraepidérmica (cúmulos de linfocitos pequeños con escasa atipia intraepidérmicos formando vesículas espongióticas), dérmica y perivascular (escasas células en dermis con ligero angiotropismo y destrucción de anejos) o bien extensa con áreas de ulceración epidérmica, infiltración de tejido celular subcutáneo, partes blandas y tejido muscular. En estadios avanzados se observa infiltración ganglionar por linfoma. El tamaño y la atipia citológica es variable y aumenta a medida que evoluciona la enfermedad.

Las células tumorales son EBV-EBER positivas con expresión de CD3 citoplasmático y marcadores citotóxicos. Pueden expresar CD56 y CD30. La expresión de CD4 y CD8 es variable siendo frecuentemente doble negativas. Se ha observado la expresión frecuente de TCRBF1 y en menor medida de TCR-Gamma o la ausencia de expresión de ambos marcadores. Se observan abundantes células de hábito linfocitario negativas para EBV-EBER.

A9. LINFOMA T CD4-POSITIVO DE CELULAS PEQUEÑAS-MEDIANAS. Entidad provisional según la OMS.

Es un proceso linfoproliferativo que se presenta como nódulos únicos en región de cabeza, cuello y parte superior del tronco. Se han descrito casos con lesiones múltiples. Ocurren en adultos, y tienen un curso clínico benigno.

Histopatológicamente se observa una proliferación difusa dérmica de células de pequeño-mediano tamaño con no más de un 20% de células grandes. Hay escaso foliculotropismo, con presencia de "Grenz zone", escasos centros germinales reactivos de pequeño tamaño generalmente en áreas profundas y puede observarse abundante componente B reactivo acompañante, así como plasmáticas, eosinófilos, histiocitos y células gigantes multinucleadas.

Las células neoplásicas expresan CD3, CD4 y característicamente marcadores T de fenotipo centrofolicular como PD1, CXCL13, BCL6 y en ocasiones CD10. No suelen observarse restricción de cadenas ligeras en el componente linfoplasmocitario.

B. LINFOMAS B PRIMARIO CUTÁNEOS

Representan el 30% de los linfomas primarios cutáneos.

B1. LINFOMA B DE LA ZONA MARGINAL PRIMARIO CUTÁNEO (LMPC)

Este tipo de linfomas suponen el 7% de los linfomas primarios cutáneos. Son de muy buen pronóstico con una supervivencia global específica de enfermedad del 99-100% a los 5 años. Suelen presentar recidivas ocasionales pero no suelen tener afectación extracutánea. Entre los pacientes con linfoma B de la zona marginal de presentación primaria cutánea tan sólo un 2% presentan infiltración franca de la médula ósea, momento en el que dejan de considerarse cutáneos. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples, en forma de pápulas, nódulos o placas principalmente en el tronco y extremidades. De forma inhabitual pueden tener un curso clínico intercurrente (aparición y desaparición de las lesiones espontáneamente). La desaparición espontánea puede asociarse con la aparición de anetodermia.

Histopatológicamente presentan un patrón de afectación dérmica difuso o pseudonodular constituido por folículos linfoides de centros germinales reactivos y expansión de linfocitos del área marginal que disecan los haces de colágeno. Se acompañan de un número variable de células dendríticas multinucleadas y blastos. Hay abundantes células de hábito linfoplasmocitode o plasmáticas maduras en la periferia de la lesión y bajo la epidermis.

Las células neoplásicas del área marginal expresan CD20, CD79a y BCL2 y son CD10 y BCL6 negativas. Las células plasmáticas expresan CD138 y CD79a pero son CD20 negativas y presentan restricción de cadenas ligeras en el estudio inmunohistoquímico en el 75% de los casos. Los linfocitos B del centro germinal de carácter reactivo expresan CD10 y BCL6 pero son BCL2 negativos. Se ha descrito positividad nuclear con BCL10 (46% de los casos) y se asocia con tumores agresivos localmente.

Se describen dos subtipos:

- Con cambio de clase de las inmunoglobulinas (Igs) y expresión de IgG, principalmente IgG4; presenta abundantes linfocitos T reactivos acompañantes de fenotipo TFH2 y escasa células B neoplásicas.
- Sin cambio de clase de las Igs; expresan IgM, y suelen acompañarse de proliferaciones difusas de células B, expresión de CXCR3, y asociarse con infección por *Borrelia burgdorferi*.

B2. LINFOMA B CENTROFOLICULAR PRIMARIO CUTÁNEO (LCFPC)

Representan el 9-11% de los linfomas primarios cutáneos. Frecuentemente se presentan como placas o tumores múltiples o solitarios en la región del tronco, de la cabeza o el cuello. A veces se presentan como placas eritematosas con nódulos sobre ellas ("Linfoma de Crosti") y algunos pacientes presentan múltiples lesiones papulosas de pequeño tamaño alejadas 10-15 cm de la lesión principal.

El pronóstico es muy bueno, con una supervivencia global superior al 95% a los 5 años. Los casos de presentación multifocal o de localización en piernas parecen tener peor pronóstico. Se ha descrito la progresión a linfoma B difuso de células grandes.

Histopatológicamente se definen como una proliferación de centrocitos y centroblastos que puede adoptar un patrón nodular, mixto (nodular y difuso) o difuso. Las células tumorales se acompañan de numerosas células T de carácter reactivo. Algunos LCFPCs presentan morfología fusocelular. A diferencia de los linfomas foliculares ganglionares los LCFPC no se gradan.

Las células tumorales expresan CD20 y CD79a. Son característicamente BCL6 positivos. Se observa positividad variable con CD10 en los de patrón de crecimiento nodular. No se observa expresión de MUM1.

La expresión de BCL2 está más restringida que la contrapartida ganglionar. Su presencia en más del 50% de las células tumorales en LCFPC constituidos por células grandes y patrón de crecimiento difuso se asocia a peor pronóstico. En casos con una expresión intensa y difusa de BCL2, se debe descartar que se trate de una forma secundariamente cutánea de linfoma B folicular. La presencia de translocación entre los genes IgH@/BCL2 se detecta hasta en un 10-41% de los LCFPCs. Sin embargo, se recomienda igualmente descartar clínicamente en estos casos afectación cutánea por un linfoma B folicular sistémico.

B3. LINFOMA B DIFUSO DE CÉLULAS GRANDES PRIMARIO CUTÁNEO DE TIPO PIERNAS (LBDCG-PCTP).

Representan el 4% de los linfomas primarios cutáneos. Son linfomas agresivos con una supervivencia a los 5 años del 55%. Se presentan característicamente en las piernas, aunque no son exclusivos de esta localización (15-20% otra localización). Son más frecuentes en personas añosas y frecuentemente mujeres. Suelen cursar en forma de nódulos únicos o múltiples, uni o bilaterales. Presentan rápido crecimiento y gran tendencia a la diseminación extracutánea (50%), principalmente a ganglios locorregionales.

Histopatológicamente se caracterizan por un infiltrado difuso dérmico de células de mediano-gran tamaño y aspecto inmunoblástico o centroblastico que frecuentemente alcanzan el tejido celular subcutáneo y respetan la epidermis. No se observan células B de pequeño tamaño y el componente reactivo de fenotipo T es muy escaso y frecuentemente limitado al área perivascular.

Las células tumorales expresan CD20, CD79a y BCL2. Pueden expresar CD10 y BCL6. De forma característica presentan expresión de IgM, MUM1 y FOXP1 en la mayoría de los casos. La mutación L265P de MYD88 se encuentra en un porcentaje variable de casos de LBDCG-PCTP según las series (33-61%).

B4. OTROS TIPOS/SUBTIPOS DE LINFOMAS B DIFUSOS DE CÉLULAS GRANDES (LBDCG) (muy infrecuentes).

Se han descrito principalmente y representan la afectación cutánea por un linfoma sistémico en la mayoría de los casos, Linfomas B con características intermedias entre linfomas de Burkitt y linfoma B difuso de células grandes, Linfoma primario de cavidades extracavitario, Linfomas plasmablasticos, Linfoma B rico en células T, Linfomas asociados a inmunosupresión (asociados a la edad avanzada, uso de metotrexato y procesos linfoproliferativos de tipo úlcera-mucocutánea), Granulomatosis linfomatoide, Linfoma B linfoblástico.

El linfoma B intravascular aunque normalmente es multisistémico (suele afectar sistema nervioso central y pulmón) puede tener un patrón de afectación exclusivamente cutánea. Se caracteriza por la presencia de células neoplásicas grandes en el interior de la luz de estructuras vasculares de pequeño-mediano calibre en dermis o tejido celular subcutáneo. Clínicamente se caracteriza por la aparición de manchas o placas violáceas o lesiones de tipo telangiectásico en piel de extremidades inferiores o tronco. Se ha descrito la colonización exclusiva de tumores vasculares benignos (hemangiomas) y la extravasación de escasas células tumorales a dermis perivascular. Aunque requiere tratamiento quimioterápico es de mejor pronóstico que el de presentación sistémica. Demostrar el inmunofenotipo B es esencial para descartar otros procesos neoplásicos con similar presentación clínico-patológica como el LACGPC o Linfoma T/NK de tipo nasal.

2. TIPO DE MUESTRA IDONEA PARA EL DIAGNÓSTICO

Biopsia incisional o escisional cutánea que incluya epidermis, dermis y tejido adiposo.

Biopsia-cilindro de médula ósea: Su indicación es controvertida en linfomas T de curso clínico indolente y en Linfoma B de la zona marginal primario cutáneo. En los linfomas B y T agresivos está indicada como método de estadiaje.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNOSTICOS

Los casos de linfomas cutáneos plantean diagnóstico diferencial histopatológico con una amplia variedad de procesos no neoplásicos. Entre ellos se destacan:

- MF en estadio inicial vs procesos inflamatorios (eczema, psoriasis, etc) vs reacción a fármacos.
- MF CD8-positiva vs vitíligo.
- MF granulomatosa vs procesos inflamatorios de carácter granulomatoso (tuberculosis, hongos, sarcoidosis, granuloma anular, etc..)
- LACGPC con abundante componente inflamatorio vs PL vs procesos virales, pioderma, reacción a fármacos, etc.
- La variante hiperplásica pseudoepiteliomatosa de LACGPC debe diferenciarse de carcinomas epidermoides.

- LTSP vs paniculitis lúpica. Este diagnóstico diferencial es especialmente difícil en niños.
- LMPC y LCFPC vs Hiperplasia folicular cutánea.

Este diagnóstico diferencial debe tener en cuenta principalmente características clínicas de la enfermedad y debe realizarse una adecuada correlación clínico-patológica. En caso de sospecha de proceso linfoproliferativo es preciso realizar un estudio IHQ apropiado y estudios moleculares en casos seleccionados.

4. PANELES DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) e HIBRIDACIÓN IN SITU CROMOGENICA (HIS-C).

Dado el amplio espectro de LPC se aconseja inicialmente definir si se trata de un proceso B o T y posteriormente según el patrón morfológico y las características clínicas del paciente ampliar la batería de marcadores inmunohistoquímicos.

Panel de primera línea: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, ki67.

Paneles de segunda línea:

Línea T: CD5, CD7, TCRBF1, TCR-Gamma, TCR-delta, CD56, ALK, EBV-EBER, PD1.

Línea B: BCL2, BCL6, CD10, KAPPA, LAMBDA, MUM1.

Paneles de tercera línea: TdT, TCL1, CD123, CD68, FOXP3, CD25.

Si el caso no es claramente tipificable con los estudios previos considerar infiltrados de tipo leucémico (leucemia cutis, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas), linfoma linfoblástico, leucemia T-prolinfocítica y leucemia-linfoma T del adulto.

5. CITOGENÉTICA Y MOLECULAR

Se recomienda la determinación molecular de clonalidad linfoide de Ig y TCR mediante PCR como método complementario al diagnóstico y evaluación de recidivas (véase apartado de diagnóstico molecular). Se debe tener en cuenta que en estadios iniciales de la MF debido a la escasez de infiltrado tumoral pueden no encontrarse reordenamientos clonales de los genes de TCR. A su vez, se pueden encontrar reordenamientos clonales T en algunos procesos de carácter reactivo. Ocasionalmente, en algunos procesos neoplásicos de estirpe T/NK el estudio molecular muestra un patrón policlonal del gen TCR.

Se observan reordenamientos clonales de los genes de Ig en la mayoría de los linfomas B primario cutáneos (80-83% de los LMPC; un 91-100% de los LCFPC y en un 100% de los LBDCG-PCTP). Sin embargo se han descrito también en un 4-22% de los infiltrados reactivos B de carácter no neoplásico. Se encuentran a su vez reordenamientos clonales T hasta en un 35% de los casos de linfoma B de la zona marginal primario cutáneo.

En aproximadamente un 26% de los LACGPC se ha descrito la translocación del gen IRF4 (6p25.3). Adicionalmente se ha descrito la presencia de la translocación del locus 6p25.3 afectando al gen *DUSP22-IRF4* en un 20-57% de los LACGPC, en un subgrupo de PL con patrón morfológico bifásico, en un 8% de linfomas T periféricos sin rasgos específicos y en un 30% de linfomas T anaplásicos sistémicos ALK-negativos.

En los LMPC se han descrito traslocaciones afectando a las cadenas pesadas de las IgGs (IGH) y a los genes MALT y FOXP1, respectivamente; t(14;18)(q32;q21) y t(3,14)(p14.1;q32), respectivamente. No se han encontrado reordenamientos similares a los descritos en el linfoma del área marginal (MALT) de tipo gástrico, t(11;18)(q21;q21) o t(1;14)(p22;q32).

La presencia de translocación entre los genes IgH@/BCL2 se detecta hasta en un 10-41% de los casos de LCFPC. Sin embargo, se recomienda descartar en estos casos afectación cutánea por un linfoma folicular sistémico.

Se ha demostrado de forma frecuente translocación de los genes CMYC y BCL6 y amplificación de los genes BCL2 y MALT1 en LBDCG-PCTP. La mutación L265P de MYD88 se encuentra en un porcentaje variable de casos de LBDCG-PCTP según las series (33-61%).

RECOMENDACIONES

1. La biopsia incisional amplia y escisional incluyendo epidermis y tejido celular subcutáneo de la lesión cutánea es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo primariamente cutáneo. Las biopsias tipo "punch" no son adecuadas para el diag-

nóstico. Grado C. Evidencia nivel IV

2. Se deben descartar procesos reactivos que simulan linfomas; vitíligo, paniculitis lúpica, cambios secundarios a fármacos, infecciones virales, etc. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Se recomienda estudio histopatológico convencional con H-E y un panel inmunohistoquímico básico que incluya marcadores B y T para el diagnóstico inicial. Grado C. Evidencia nivel IV
4. Panel de primera línea: CD45 (ALC), CD20, CD3, CD4, CD8, CD30, ki67. Grado C. Evidencia nivel IV
5. Panel de segunda línea: Grado C. Evidencia nivel IV
6. Línea T: CD5, CD7, TCRBF1, TCRGamma, CD56, ALK, EBV-EBER, PD1.
7. Línea B: BCL2, BCL6, CD10, KAPPA, LAMBDA, MUM1.
8. La presencia de clonalidad en el estudio molecular mediante PCR de los genes Ig y TCR es un dato a favor del diagnóstico de linfoma en un contexto clínico morfológico y fenotípico adecuado. Su ausencia no excluye el diagnóstico de proceso linfoproliferativo y su presencia aislada, en ausencia de otros datos clínicos y anatomopatológicos, no es suficiente. Grado C. Evidencia nivel IV
9. Se recomienda incluir dentro del grupo de linfomas primarios cutáneos T o B no clasificables aquellos casos que no cumplan los criterios establecidos para las diferentes entidades descritas por la WHO-EORTC. Grado C. Evidencia nivel IV
10. Es preciso tratar de establecer una buena correlación clínico patológica en cada caso para una correcta clasificación del mismo según la OMS. Grado C. Evidencia nivel IV

REFERENCIAS

1. Quintanilla-Martinez L, Jansen PM, Kinney MC, et al. Non-mycosis fungoides cutaneous T-cell lymphomas: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:491-514.
2. Swerdlow SH, Quintanilla-Martinez L, Willemze R, et al. Cutaneous B-cell lymphoproliferative disorders: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop. *Am J Clin Pathol.* 2013;139:515-535.
3. Senff NJ, Hoefnagel JJ, Jansen PM, et al. Reclassification of 300 primary cutaneous B-Cell lymphomas according to the new WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas: comparison with previous classifications and identification of prognostic markers. *J Clin Oncol.* 2007;25:1581-1587.
4. Burg G, Kempf W, Cozzio A, et al. WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. *Journal of cutaneous pathology.* 2005;32:647-674.
5. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood.* 2005;105:3768-3785.
6. Wilcox RA. Cutaneous B-cell lymphomas: 2013 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2013;88:73-76.

6. NEOPLASIAS DE CÉLULAS HISTIOCÍTICAS. NEOPLASIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS.

Autor para la correspondencia: Antonio Martínez (ANTONMAR@clinic.ub.es)

1. DEFINICIÓN Y FRECUENCIA DE LA ENTIDAD.

Las neoplasias de células dendríticas e histiocitarias son el grupo de tumores hematolinfoides menos frecuentes de todos, representando <1% de los tumores que se presentan en ganglios linfáticos y partes blandas. Dentro de este grupo se incluyen principalmente el sarcoma histiocítico, los tumores derivados de células de Langerhans, el sarcoma de células dendríticas interdigitantes y el sarcoma de células foliculares dendríticas.

Estas neoplasias pueden aparecer en cualquier edad sin embargo, son más frecuentes en la edad adulta (40-50 años). La etiología es desconocida en la mayoría de casos, con excepción de algunos casos de sarcomas de células foliculares dendríticas que se desarrollan sobre enfermedad de Castleman hialino-vascular y en las variantes tipo pseudotumor inflamatorio en que el virus de Epstein-Barr juega un papel importante, pues se ha demostrado estar en forma monoclonal en virtualmente todas las células neoplásicas.

La mayoría de estos tumores se presentan como linfadenopatía indolora aislada o bien como masa de partes blandas y tienen un pronóstico variable en función de la entidad, siendo los sarcomas de células foliculares dendríticas los de curso clínico más indolente y los sarcomas histiocíticos y los sarcomas de células de Langerhans los de peor pronóstico con una mortalidad alrededor del 50% .

2. TIPO DE MUESTRA

El diagnóstico de estas entidades se basa principalmente en el estudio morfológico e inmunofenotípico, siendo por tanto la **biopsia escisional** del tejido extraganglionar o del ganglio linfático afectado el procedimiento diagnóstico de elección. Sin embargo, cuando el contexto clínico del paciente no permita el estudio completo de la masa/ ganglio afecto, una **biopsia con aguja gruesa (BAG)** con material suficiente para poder realizar un estudio inmunohistoquímico amplio podría estar indicado.

Es necesaria la realización de una **biopsia medular** para el correcto estadiaje del paciente. En casos con sospecha de sarcoma histiocítico, una afectación difusa de la médula nos tendría que hacer considerar también el diagnóstico de leucemia monocítica aguda, ya que cuando estos tumores afectan la médula, normalmente es de forma parcheada.

3. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y ERRORES DIAGNÓSTICOS

Para el adecuado diagnóstico de las neoplasias de células histiocitarias y dendríticas, es necesario no solamente el estudio morfológico sino también un panel inmunohistoquímico amplio para descartar las principales entidades con las que hay que establecer el diagnóstico diferencial.

1. **Proliferaciones histiocitarias reactivas:** en este caso el diagnóstico es puramente morfológico. Citológicamente el sarcoma histiocítico tiene características evidentes de malignidad a diferencia de los núcleos ovales, con cromatina fina que encontramos en las proliferaciones histiocitarias reactivas.
2. **Sarcoma histiocítico:** Por definición tiene que existir:
 - a) Expresión de **uno o más** marcadores de diferenciación histiocitaria, incluyendo
 - CD163 (tinción de membrana y/o de citoplasma),
 - CD68 (clones KP1 y PGM1) (tinción granular de citoplasma y/o patrón de Golgi)
 - Lisozima (tinción granular de citoplasma y/o patrón de Golgi).
 - b) **Ausencia** de marcadores de
 - Células de Langerhans (CD1a*, langerina)
 - Células Foliculares dendríticas (CD21, CD35, CD23)
 - Células Mieloides (CD33, CD13, Mieloperoxidasa)
 - Epiteliales (pancitoqueratinas, EMA)
 - Melanocíticos (HMB45, MelanA)

Puede existir expresión focal de CD15, S100, CD45, CD45RO, HLA-DR. CD4 es generalmente positivo.

* Existe algún caso descrito con expresión focal y débil.

3. **Sarcoma de células foliculares dendríticas:** Para un diagnóstico de seguridad hay que demostrar positividad para uno o más marcadores de células foliculares dendríticas (CD21, CNA42, CD35 o CD23), aunque a veces la positividad es solamente focal, especialmente en las variantes más agresivas o en las pseudotumor inflamatorio-like. Otros marcadores que suelen ser positivos son CXCL13, EGFR, Vimentina y fascina. Hay que tener en cuenta que también pueden ser positivos, aunque de manera focal, CD68, EMA, S100, CD20, CD45 o queratinas.
4. **Sarcoma de células dendríticas interdigitantes:** La células expresan intensa e invariablemente S100 siendo negativas para langerina. Otros marcadores que pueden ser positivos son vimentina, HLA-DR y fascina. CD68 también puede ser positivo. Los marcadores de células foliculares dendríticas (CD21, CD35 y CD23), mieloperoxidasa y CD34 son negativos. CD1a aunque generalmente negativo, se ha reportado algún caso con positividad focal y débil.
5. **Histiocitosis de células de Langerhans y Sarcoma de células de Langerhans:** Las células de Langerhans son positivas para CD1a, proteína S100 y/o langerina aunque en casos de SCL la tinción puede ser focal o débil.
Otros marcadores que pueden ser positivos son HLA-DR, CD68, CD45, Vimentina y Lisozima. Los marcadores de células foliculares dendríticas son negativos (CD21, CD23, CD35). Para diferenciar el SCH de la HCL es importante la morfología ya que las HCL las células de Langerhans son citológicamente "benignas" y se acompaña frecuentemente de eosinófilos. En casos de SCL el acompañamiento de eosinófilos está o bien ausente o estos son escasos. Aunque hay casos de HCL con tasas mitóticas altas, generalmente son bajas. Clínicamente puede existir superposición entre estas dos entidades ya que también existen casos de HCL con afectación multiorgánica.
6. **Leucemia monocítica:** A diferencia del SH, Generalmente tiene presentación sistémica y además expresa marcadores de diferenciación mielóide como CD33 y CD34.
7. **Otros diagnósticos** que hay que tener en cuenta ya que morfológicamente pueden remedar neoplasias histiocitarias/dendríticas son el linfoma difuso de células grandes B, los linfomas anaplásicos, el melanoma o casos de carcinomas indiferenciados. Sin embargo, el estudio inmunohistoquímico nos permitirá en cualquiera de estos casos llegar al diagnóstico definitivo.

4. PANELES DE IHQ

El abordaje de las neoplasias histiocitarias/dendríticas debe incluir un panel inmunohistoquímico amplio, en primer lugar descartar neoplasias más frecuentes que morfológicamente pueden ser similares y en segundo lugar, incluir otra serie de marcadores para la mejor subclasificación de las diversas entidades.

Los marcadores de origen histiocitario/dendrítico que se recomienda utilizar en primer lugar son CD68 (clones PGM1 y/o KP1), CD1a, lisozima, S100, CD21 y CD23. De este modo podemos subclasificar alrededor del 90% de los casos.

Otros marcadores que serían de utilidad para el 10% restante serían CD163, langerina, CD35.

5. CITOGENÉTICA/MOLECULAR

Aunque todavía no existe ninguna alteración molecular recurrente reconocida en la última clasificación de la OMS (2008) para este tipo de neoplasias, estudios recientes sugieren implicaciones importantes de la vía de BRAF en la patogénesis o en la transformación de las neoplasias de células histiocitarias y dendríticas. Así se ha encontrado la mutación BRAFV600E en histiocitosis de células de Langerhans (~60%), sarcoma histiocítico (~60%) y en la enfermedad de Erdheim-Chester (~60%) (véase capítulo de molecular).

Además, estudios recientes, sugieren que los pacientes con mutaciones de BRAF podrían beneficiarse de tratamientos con inhibidores del mismo.

RECOMENDACIONES.

1. Se trata de entidades muy poco frecuentes y cuyo diagnóstico es de exclusión en la mayoría de los casos, de modo que para el adecuado diagnóstico es necesario un conocimiento del estado clínico y analítico del paciente, así como un extenso estudio morfológico e inmunohistoquímico para descartar otras entidades. Grado C. Evidencia nivel IV
2. Panel de IHQ: CD68 (clones PGM1 y/o KP1), CD1a, lisozima, S100, CD21, CD23, CD163, langerina, CD35. El uso del panel de inmunohistoquímica propuesto, permitiría virtualmente la subclasificación de la gran mayoría de estas neoplasias. Sin embargo, se dispone también de otras técnicas como la microscopía electrónica que pueden ser de utilidad en determinados casos. Grado C. Evidencia nivel IV
3. Al tratarse de tumores de difícil abordaje diagnóstico, se recomienda la derivación del caso a hospitales con larga trayectoria y experiencia en el diagnóstico de neoplasias hematolinfoides. Grado C. Evidencia nivel IV

*Los autores desean agradecer a la Dra Blanca González su colaboración en la redacción de este capítulo.

REFERENCIAS

1. Swerdlow SH, CE HN, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues., 2008.
2. Pileri et al. *Histopathology* 41, 1–29 (2002). Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases.
3. Kairouz et al. *Am J Hematol.* 2007 Oct;82(10):924-8. Dendritic cell neoplasms: an overview.
4. Hornick JL et al. *Am J Surg Pathol.* 2004 Sep;28(9):1133-44. Extranodal histiocytic sarcoma: clinicopathologic analysis of 14 cases of a rare epithelioid malignancy.
5. Go H et al. *Histopathology.* 2014 Aug;65(2):261-72. Frequent detection of BRAF(V600E) mutations in histiocytic and dendritic cell neoplasms.
6. Bubolz AM et al. *Oncotarget.* 2014 Jun 30;5(12):4060-70. Potential clinical implications of BRAF mutations in histiocytic proliferations.
7. Haroche J, Charlotte F, Arnaud L, von Deimling A, Helias-Rodzewicz Z, Hervier B, et al. High prevalence of BRAF V600E mutations in Erdheim-Chester disease but not in other non-Langerhans cell histiocytoses. *Blood.* 2012 Sep 27;120(13):2700-3.
8. Mehes G, Irsai G, Bedekovics J, Beke L, Fazakas F, Rozsa T, et al. Activating BRAF V600E Mutation in Aggressive Pediatric Langerhans Cell Histiocytosis: Demonstration by Allele-specific PCR/ Direct Sequencing and Immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol.* 2014 Aug 12.
9. Badalian-Very G, Vergilio JA, Degar BA, MacConaill LE, Brandner B, Calicchio ML, et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood.* 2010 Sep 16;116(11):1919-23.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE NEUROLOGÍA DE LA SEAP

Introducción

Miguel Idoate Gastearena, coordinador del club

Correspondencia: maidate@unav.es

El objeto de esta guía práctica es ofrecer a nuestros queridos colegas, comprometidos con la ciencia y el arte del diagnóstico anatomopatológico una orientación sobre cómo abordar la práctica asistencial neuropatológica. Los autores somos conscientes de que el estudio de la neuropatología es considerado por algunos como un territorio desconocido, cuando no hostil, pero sin embargo, aporta gratas experiencias al viajero motivado y bien pertrechado, y necesita de un orientador. El objetivo de los autores ha sido pues guiar al patólogo ofreciéndole unas indicaciones precisas sobre qué camino tomar y cómo utilizar algunos atajos, basándose en su propia experiencia.

Estas recomendaciones se centran en cinco aspectos fundamentales: *Neuropatología pediátrica*, verdadera maraña de entidades en las que hay que ser muy conocedor para identificarlas correctamente, *Neuropatología oncológica*, apoyada en la patología molecular y la inmunocitoquímica, *Enfermedades neurodegenerativas*, que ha experimentado una gran transformación con la genética molecular y la inmunocitoquímica, *El estudio de la biopsia muscular*, área compleja en la que también han surgido gran número de nuevas entidades nosológicas apoyadas en los estudios moleculares e inmunocitoquímicos y *La biopsia de nervio periférico*, que requiere de unas orientaciones claras para proceder correctamente en su diagnóstico.

A todos los lectores les deseo que estas guías prácticas en neuropatología les sean útiles para enfocar mejor sus casos clínicos. Entiendo que en el diagnóstico neuropatológico, al igual que en cualquier área de nuestra especialidad, es fundamental que la relevante labor del patólogo esté más integrada con el quehacer de nuestros colegas de otras disciplinas, y en la medida en que el patólogo se sienta un miembro más del equipo médico que tome las decisiones sobre los pacientes, nuestro papel asistencial será más eficaz, y se conseguirá una mayor proyección de nuestra especialidad. La interdisciplinariedad es necesaria y muy enriquecedora y ayuda, no sólo a hacer mejor las cosas sino a vivirlas en plenitud.

En definitiva, eres tú querido colega, el que juzgarás en qué medida estas orientaciones han cumplido con el objetivo que buscaban.

GUÍAS PRÁCTICA EN NEUROLOGÍA

ÍNDICE

1. MALFORMACIONES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Victoria Cusí, Cristina Jou

2. RECOMENDACIONES EN NEUROLOGIA ONCOLOGICA

Miguel Ángel Idoate

3. GUÍA PRÁCTICA PARA EL DIAGNÓSTICO LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Alberto Rábano.

4. LA BIOPSIA MUSCULAR. ASPECTOS PRACTICOS

Federico García Bragado.

5. PROCESAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA BIOPSIA DE NERVIOS PERIFÉRICOS

Eloy Rivas

Malformaciones del Sistema Nervioso Central

Victoria Cusí y Cristina Jou.

Hospital Sant Joan de Deu, Barcelona

Aunque en general se denomina malformación congénita a toda anomalía presente en el nacimiento, el término "defecto congénito" es más correcto y debe reservarse "malformación congénita" a aquella anomalía morfológica, resultado de un proceso del desarrollo intrínsecamente anómalo. En el momento del nacimiento también pueden presentarse anomalías morfológicas debidas a una interferencia de factores externos en el desarrollo embrionario y fetal, conocidas como disrupciones. El estudio neuropatológico sistemático debe dirigirse a diferenciar ambos tipos de patología.

El estudio del sistema nervioso central, en lo que se refiere a anomalías congénitas, se solicita principalmente en casos de autopsia fetal, perinatal o neonatal. En los dos primeros casos la finalidad es obtener un diagnóstico preciso sobre la patología presente para orientar la conducta a seguir en un embarazo posterior. En casos de autopsia fetal o perinatal sin patología conocida, lo que se espera es descartar la presencia de anomalías que hayan pasado desapercibidas al estudio clínico y radiológico.

Requisitos previos al estudio neuropatológico:

Para proceder a la sistematización correcta del estudio neuropatológico el patólogo debe conocer las sospechas diagnósticas clínicas para elegir el método de aproximación más adecuado. En patología neonatal y fetal también es necesario conocer la edad gestacional para valorar si el estadio de desarrollo del cerebro es adecuado. Ver tablas 1 y 2.

I. ESTUDIO MACROSCÓPICO

Examen externo; biometría

Las medidas y las anomalías externas que mejor pueden orientar sobre la presencia de una patología del SNC son:

- Perímetro craneal (macro o microcefalia)
- Distancia intercantal interna y externa y longitud de la hendidura palpebral (hipotelorismo o hipertelorismo asociados a defectos de línea media).
- Protusiones o soluciones de continuidad de la superficie craneal o en la línea media del dorso (defectos del tubo neural).

Cavidad craneal

Una incisión coronal del cuero cabelludo permite retirar la piel craneal y poner de manifiesto la presencia de defectos óseos. Al abrir el cráneo a través de las suturas, es necesario observar la permeabilidad de los senos derales, la cantidad de líquido cefalorraquídeo y comprobar el estado de las meninges (hemorragias, infecciones, etc.). En caso de sospecha de anomalía de la fosa posterior, cuando es importante comprobar la posible herniación de folias cerebelosas al canal medular, es conveniente realizar una incisión media occipital, y retirar la piel para realizar una laminectomía cervical alta y exponer el canal vertebral.

Antes de extraer el encéfalo es fundamental comprobar la presencia de dos hemisferios cerebrales simétricos, con un patrón de circunvoluciones adecuado para la edad.

En los casos de autopsia fetal, cuando hay un grado de autolisis avanzado, es posible comprobar este punto antes de extraer el encéfalo y descartar así la presencia de una patología importante, ya que posiblemente la extracción del encéfalo comprometa su aspecto y la comprobación carezca de valor una vez extraído. Para facilitar la extracción, a veces es conveniente sumergir el cráneo en agua. Cuando no es necesario disponer del cadáver de inmediato, puede ser útil la fijación *in situ*, y proceder a su extracción una vez fijado.

Disección del encéfalo

Después de la fijación en formol al 10%, durante un mínimo de 15 días, se realizan las secciones, según el plano que mejor se adapte a la patología sospechada. En general se suelen hacer secciones coronales u horizontales ya que permiten una mejor exposición de numerosas anomalías, más difíciles de interpretar en secciones sagitales. Sin embargo, en determinadas malformaciones es preferible una sección sagital como por ejemplo ante la sospecha de una malformación de Dandy-Walker. También en caso de malformación de Arnold-Chiari, la demostración del colapso del IV ventrículo, el alargamiento del tronco y la herniación de las folias cerebelosas al canal medular es más clara en una sección sagital de cerebelo y tronco cerebral.

II. ESTUDIO MICROSCÓPICO

El estudio microscópico debe incluir secciones de: córtex y sustancia blanca cerebral de todos los lóbulos, ángulo de los ventrículos laterales, hipocampo, ganglios basales incluyendo estriado y tálamo, pedúnculos cerebrales, protuberancia, bulbo raquídeo, vermis y hemisferios cerebelosos incluyendo núcleo dentado y secciones de médula espinal.

III. ANOMALÍAS DEL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

A. DEFECTOS DEL TUBO NEURAL

Se producen en la 3ª y 4ª semanas de la vida embrionaria. Pueden ser aislados o asociados a defectos cromosómicos o síndromes autosómicos recesivos, por ejemplo el síndrome de Meckel.

ANENCEFALIA: defecto de cierre del tubo neural anterior que provoca ausencia de cerebro, bóveda craneal y piel epicraneal, substituidos por una masa vasculosa. En muchas ocasiones es el estadio final de una exencefalia (ausencia de piel y huesos de la bóveda craneal) en que el tejido cerebral se destruye al estar en contacto con el líquido amniótico.

CRANEORRAQUISQUIS: defecto global de la neurulación, que presenta una estructura neural en placa sin cubierta ósea ni cutánea.

ENCEFALOCELE: defecto localizado de la neurulación, con herniación del tejido cerebral a través de un defecto óseo y a menudo cutáneo. La localización más frecuente es la occipital, seguida por la frontal.

MIELOCELE/MIELOMENINGOCELE: defecto de cierre del tubo neural posterior que provoca ausencia de cubiertas óseas y cutáneas de una zona de la médula espinal.

MALFORMACIÓN DE ARNOLD-CHIARI (Chiari tipo II): herniación de folias cerebelosas, alargamiento del tronco y colapso del IV ventrículo, asociada a mielomeningocele .

B. OTRAS ALTERACIONES DE LA MÉDULA ESPINAL

DIATEMATOMIELIA: dos hemimédulas.

DIPLOMIELIA: duplicación de la médula espinal

FILUM TERMINAL AUSENTE, CANAL ESPINAL QUÍSTICO, ESPINA BÍFIDA OCULTA.

C. HOLOPROSENCEFALIA

Se produce en la 5ª semana de vida embrionaria por ausencia de división del prosencéfalo en dos hemisferios cerebrales.

Se clasifica en:

1. Holoprosencefalia **alobar** : holosfera única sin fisura interhemisférica ni bulbos olfatorios, con ventrículo único, fusión talámica, ausencia de hoz del cerebro, de cuerpo caloso y de septum interventricular y patrón anormal de circunvoluciones. El tejido cerebral se continúa con membranas en la región occipital dándole un aspecto pseudoquístico.
2. Holoprosencefalia **semilobar**: fusión anterior de los dos hemisferios separados por un surco en la zona posterior.
3. Holoprosencefalia **lobar**: presencia de surco interhemisférico con dos hemisferios cerebrales unidos por un puente de tejido cortical.
4. **Aprosencefalia/atelencefalia**: forma extrema con un prosencéfalo rudimentario.

La holoprosencefalia puede presentar mutación en 7 genes (*SHH, TGIF, SIX3, PTHC, DKK, ZIC2, GLI2*), puede asociarse a anomalías cromosómicas (principalmente trisomía 13), síndromes malformativos o ser secundaria al efecto de teratógenos.

D. ANOMALÍAS DE LAS ESTRUCTURAS DE LA LÍNEA MEDIA

- **AGENESIA DEL CUERPO CALOSO:** fallo en la formación o decusación de las fibras córtico-corticales. Puede asociarse a otras malformaciones del sistema nervioso o sistémicas y también a anomalías cromosómicas. Puede ser parcial afectando a la parte posterior o completa. Un defecto focal puede asociarse a un lipoma, hamartoma o quiste. La ACC se pone de manifiesto en la sección sagital y media del cerebro y en las secciones coronales, en las que también se observa una dilatación y desplazamiento craneal de los ventrículos laterales en alas de murciélago.
- **AGENESIA DEL SEPTUM PELLUCIDUM:** ventrículo único asociado generalmente a atrofia óptica y disfunción del eje hipotálamo-hipofisario (displasia septo-óptica). El cavum del septum pellucidum se halla presente en el feto inmaduro y puede persistir después del nacimiento. Un cavum grande puede simular un ventrículo único.
- **ANOMALÍAS DEL ACUEDUCTO DE SILVIO:** la **atresia** del acueducto requiere secciones seriadas para ser confirmada. La **estenosis** significa una luz reducida con una forma normal del acueducto sin otras anomalías histológicas. Ocasionalmente se asocia a hidrocefalia ligada al X, anomalías de los tractos piramidales y deformaciones de los pulgares. Las alteraciones de la forma, bifurcación, oclusión parcial y la formación de rosetas endimarias en la vecindad, se conocen como **displasia**. La **oclusión** puede ser secundaria a hemorragia o infección y se asocia a gliosis con siderófagos.

E. MICROCEFALIA

Microcefalia primaria: definida como perímetro craneal por debajo de 3 desviaciones estándar de la media relacionada con edad y sexo, en la que no hay otra causa de microcefalia, ya sea malformativa o por agentes exógenos.

Tipos:

1. Microcefalia vera y microcefalia con patrón de surcos simplificado.
2. Microcefalia primaria autosómica recesiva: varios genes conocidos.
3. Microcefalia primaria autosómica dominante: no se conoce el gen.
4. Microcefalia ligada al X: Grupos heterogéneo asociado a retraso mental.
5. Microcefalia en síndromes cromosómicos: Síndrome Down, Síndrome de Edwards, Síndrome Cri-du-chat y Síndrome de Wolf-Hirschhorn.
6. Síndromes asociados a microcefalia congénita: La microcefalia es el signo mayor en diversos síndromes autosómicos recesivos: Síndrome de Nijmegen breakage, Síndrome con microcefalia-microftalmia-ectrodactilia -prognatismo, disrafismo primordial osteodisplásico microcefálico (MOPD), Síndrome de Smith-Lemli-Opitz y Síndrome de Rubinstein-Taybi.

Trastornos genéticos asociados a microcefalia progresiva:

1. Síndrome de Rett
2. Síndrome de Alpers
3. Lipofuscinosis neuronal ceroides infantil con depósitos granulares osmiofílicos (GROD)

Microcefalia secundaria (no genética): la exposición a factores tóxicos ambientales durante el desarrollo del cerebro puede dar lugar a retraso mental y cerebro de pequeño tamaño. La microcefalia puede ser el resultado final de otras malformaciones del sistema nervioso central.

F. ANOMALÍAS DEL CEREBELO

- **AGENESIA o hipoplasia extrema:** muy infrecuente, se asocia generalmente a hidrocefalia, ACC, anomalías del puente, de los pedúnculos cerebelosos o de la oliva inferior.
- **HIPOPLASIA:** el diagnóstico debe hacerse utilizando criterios biométricos. Cerebelo y tronco deben pesarse por separado de los hemisferios cerebrales. En el desarrollo normal la tasa de crecimiento del cerebelo hasta el 5º mes de gestación es menor que la de los hemisferios cerebrales. El peso debe ser 6-7% del peso total del cerebro en el último trimestre, del 9% en el 4º mes de vida postnatal, del 10% en el 9º mes de vida postnatal y del 12% a partir de los 18 meses. Las causas de la hipoplasia son muy heterogéneas y puede ser difícil asegurar si es una anomalía malformativa o secundaria a un proceso degenerativo o a hipoxia fetal o perinatal.
- **AGENESIA DEL VERMIS CEREBELOSO:** puede ser esporádica o familiar y puede asociarse a otras malformaciones cerebrales. En el **síndrome de Joubert** se observa agenesia de vermis sin dilatación del IV ventrículo, displasia del núcleo dentado y de la oliva con clínica de episodios de hiperpnea, movimientos oculares anómalos, ataxia y retraso mental.
- **HIPOPLASIA/ATROFIA PONTO-CEREBELOSA:** Existen otras formas de hipoplasia/atrofia cerebelosa con afectación constante del puente, de herencia autosómica recesiva, de las que se han descrito 6 formas distintas asociadas a distintas anomalías morfológicas, clínicas y genéticas.
- **MALFORMACIÓN DE DANDY-WALKER:** dilatación del IV ventrículo con ausencia o hipoplasia del vermis y con desplazamiento craneal del mismo. Puede asociarse a otras malformaciones del sistema nervioso. Los casos en que el vermis es hipoplásico y desplazado cranealmente pero en un grado menor, se conocen como variantes. Las causas de esta malformación son heterogéneas: en su mayoría esporádicas, pero también se han descrito casos asociados a trastornos autosómico recesivos y de herencia ligada al X.

G. ANOMALÍAS DEL TRONCO DEL ENCEFALO

- **SÍNDROME DE MÖEBIUS:** Afectación de núcleos de pares craneales bajos que puede ser aplasia primaria o necrosis y calcificación secundaria hipoxia fetal precoz.
- **OTRAS ANOMALÍAS:** Heterotopias olivares y displasias olivares y dentadas; trastornos de la estructura neuronal que se asocian a múltiples patologías.

H. TRASTORNOS DE LA MIGRACIÓN NEURONAL

- **HETEROTOPIAS NEURONALES.** Hay distintos tipos: **Heterotopia leptomenígea** en continuidad generalmente con la zona marginal del parénquima cerebral, **heterotopia en banda subcortical** y **heterotopia periventricular**.
- **AGIRIA- PAQUIGIRIA-LISENCEFALIA:** trastorno de la migración neuronal con afectación de la migración neuronal radial. Ausencia de circunvoluciones cerebrales o circunvoluciones muy anchas. Hay varios tipos:
 - **Lisencefalia tipo I;** el manto cortical está constituido por 4 capas con marcada reducción de la sustancia blanca y con abundantes nidos de neuronas heterópicas periventriculares. Asociado a mutaciones en *LIS1*. En los casos más graves no se observan circunvoluciones (**agiria**) mientras que la presencia de circunvoluciones gruesas y toscas (**paquigiria**) puede observarse en diferentes zonas.
 - **Lisencefalia tipo II o cobblestone;** entidad distinta embriológica y patológicamente que en el examen microscópico del córtex está desorganizado sin que se reconozcan las capas corticales y la mayoría de las neuronas se encuentran en la leptomenígea a la que han accedido por una fusión de la capa molecular y la menígea por un defecto en la limitante pial glial. El diagnóstico diferencial debe establecerse con la polimicrogiria organizada en 4 capas.
- **DISPLASIA CORTICAL:** alteración focal de la citoarquitectura cortical. La macroscopía puede ser normal a simple vista, aunque en algunos casos tendremos un córtex con poca delimitación con la sustancia blanca subyacente. Puede ser de consistencia firme a la palpación. Microscópicamente presentan desorganización en la arquitectura y de neuronas individuales., se clasifican según sus hallazgos histológicos. Ver tabla 3
- **POLIMICROGIRIA:** excesivo plegamiento del córtex, con fusión de circunvoluciones consecutivas. observándose una superficie cortical irregular con circunvoluciones pequeñas y juntas que a la sección coronal muestran fusión de circunvoluciones consecutivas. Se asocia a factores ambientales, enfermedades metabólicas y a síndromes congénitos múltiples. Se ha descrito con distintos patrones de herencia autosómica dominante, recesiva y ligada al X. Histológicamente se reconocen dos subtipos:
 - Polimicrogiria desestructurada.
 - Polimicrogiria en 4 capas; ambos tipos pueden suceder juntos. Se considera un trastorno postmigracional.
- **ULEGIRIA:** circunvoluciones de forma anómala, con estructura histológica normal en la cresta de la circunvolución y alteraciones en la profundidad del surco secundarias a hipoxia-isquemia.
- **HEMIMEGALENCEFALIA:** rara malformación de SNC caracterizada por el excesivo crecimiento de un hemisferio cerebral. Puede ser primaria (esporádica o familiar) o secundaria asociada con enfermedades genéticas y metabólicas como: leucodistrofias y enfermedad de Alexander.
- **MEGALENCEFALIA:** agrandamiento global del cerebro con un peso superior a 2'5 desviaciones estándar de la media según edad y sexo.

IV. ANOMALÍAS SECUNDARIAS

Hay diversas anomalías morfológicas presentes al nacimiento producidas por procesos extrínsecos que interfieren con el desarrollo normal durante la vida fetal, que pueden simular malformaciones:

- **QUISTES:** en el estudio neuropatológico pueden hallarse quistes aracnoideos, quistes de plexos coroides o quistes endodimarios. Sin embargo, las lesiones quísticas más frecuentes son debidas a necrosis secundaria a hipoxia-isquemia. **PORENCEFALIA** (quiste porencefálico) cuando es una lesión aislada, **ENCEFALOPATÍA MULTIQUÍSTICA** cuando hay numerosas cavitaciones separadas por tractos gliales. Microscópicamente se caracterizan por la presencia de necrosis, macrófagos, calcificación y siderófagos.
- Los QUISTES o SEUDOQUISTES PERIVENTRICULARES suelen deberse a germinolisis o hemorragia periventricular, principalmente si están localizados en el surco tálamo-caudado, o a leucomalacia periven-

tricular aislada en la sustancia blanca del ángulo de los ventrículos laterales. La HIDRANENCEFALIA corresponde a una necrosis difusa del manto cerebral, reemplazado por una membrana flotante que corresponde a la leptomeninge, que puede afectar a la totalidad del cerebro o respetar el área medial de los lóbulos temporales y al tálamo caudal. Si bien la hidranencefalia es secundaria a necrosis por hipoxia isquemia debe tenerse en cuenta que la **HIDRANENCEFALIA CON VASCULOPATÍA PROLIFERATIVA o SÍNDROME DE FOWLER** es de incidencia familiar.

RESUMEN

Finalidad del estudio de los defectos congénitos:

Realizar un diagnóstico preciso que pueda orientar a la prevención, diagnóstico o tratamiento en embarazos posteriores.

Objetivo del estudio neuropatológico:

- **Confirmación** de las sospechas clínicas mediante el diagnóstico de las alteraciones morfológicas presentes en el sistema nervioso central y orientación sobre la etiopatogenia de las mismas cuando es posible, para proceder a los exámenes complementarios genéticos, bioquímicos etc. . . que puedan confirmarlo.
- **Descartar** la presencia de alteraciones mediante un estudio exhaustivo, cuando no hay una sospecha clínica previa.

A destacar: Es importante tener siempre presente que hay errores congénitos del metabolismo que se asocian a alteraciones similares a malformaciones (por ejemplo los defectos de la glicosilación) y también a lesiones secundarias a hipoxia-isquemia (por ejemplo el defecto de sulfito oxidasa), cuando se trata en realidad de enfermedades hereditarias. La importancia de estos diagnósticos para las familias es grande y también puede tener importancia el poder descartar la presencia de patología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Developmental Neuropathology. Jeffrey A. Golden and Brain Harding. 2004
2. Handbook of Pediatric autopsy Pathology. Enid Gilbert-Barnes. Editorial Humana Press 2005
3. Neuropathological work-up of focal cortical dysplasias using the new ILAE consensus classification system – practical guideline article invited by the Euro-CNS Research Committee I. Blümcke and A. Mühlebner. Clinical Neuropathology, Vol. 30 – No. 4/2011 (164-177)
4. Fetal and Neonatal Pathology. Jean W Keeling. Springer.2007
5. Perinatal Pathology. Wigglesworth. Saunders Company. 1984
6. Genetics and biology of microcephaly and lissencephaly. Mochida G. Semin Pediatr Neurol . 2009 September ; 16(3): 120–126
7. Holoprosencephaly: recommendations for diagnosis and management. Kauvar E, Muenke M. Curr Opin Pediatr. 2010 December ; 22(6): 687–695
8. Le développement du cerveau foetal humain: Atlas anatomique. Allison Feer-Higgins. Masson. 1987

Tabla 1: Pesos del cerebro fresco y fijado. Peso del cerebro infratentorial; en relación a la edad. Nº de caso entre paréntesis. De Pediatric neuropathology editat per Serge Duckett, pag 109, 1995, Williams & Wilkins. ISBN- 0-683-02680-1.

Table 6-1. Means and standard deviations of fresh brain weight, fixed brain weight, infratentorial weight and percentage of infratentorial weight/total brain weight in relation to age. Number of cases in parentheses.

Age (weeks)	Fresh brain weight (175)	Fixed brain weight (298)	Infratentorial weight (114)	% Infratentorial/total brain weight (113)
8-9	—	0.80 (1)	—	—
10-11	—	1.20 (1)	—	—
12-13	—	5.87 (1)	—	—
14-15	15.45 ± 1.20 (2)	14.40 ± 3.34 (6)	0.76 ± 0.14 (4)	5.91 ± 0.62 (4)
16-17	21.17 ± 1.05 (3)	21.49 ± 5.34 (10)	1.21 ± 0.19 (8)	5.37 ± 0.78 (8)
18-19	37.33 ± 8.17 (10)	38.75 ± 9.52 (22)	2.19 ± 0.7 (16)	4.88 ± 0.50 (16)
20-21	52.19 ± 7.23 (15)	55.38 ± 10.18 (22)	2.81 ± 0.42 (10)	4.98 ± 0.49 (10)
22-23	75.01 ± 17.76 (9)	78.15 ± 14.37 (30)	3.71 ± 0.74 (14)	4.54 ± 0.41 (13)
24-25	101.53 ± 18.75 (15)	111.97 ± 17.30 (22)	5.23 ± 0.70 (12)	4.61 ± 0.29 (12)
26-27	130.62 ± 17.38 (21)	146.21 ± 21.69 (31)	6.95 ± 1.41 (8)	4.52 ± 0.32 (8)
28-29	169.22 ± 19.11 (18)	184.62 ± 26.40 (29)	7.63 ± 0.79 (6)	4.76 ± 0.46 (6)
30-31	203.02 ± 25.99 (21)	229.54 ± 29.84 (26)	12.25 ± 2.02 (4)	5.24 ± 0.35 (4)
32-33	234.98 ± 28.24 (13)	266.00 ± 32.78 (13)	14.00 (1)	5.18 (1)
34-35	280.3 ± 28.19 (14)	309.32 ± 47.04 (19)	15.75 ± 3.18 (2)	5.58 ± 0.41 (2)
36-37	325.83 ± 40.75 (6)	366.00 ± 50.27 (11)	21.43 ± 3.36 (6)	6.07 ± 0.66 (6)
38-39	391.69 ± 41.39 (10)	433.30 ± 56.89 (20)	26.93 ± 4.70 (10)	6.27 ± 0.56 (10)
40-41	409.63 ± 37.55 (17)	455.27 ± 53.66 (33)	29.05 ± 4.04 (13)	6.68 ± 0.65 (13)

(From Guihard-Costa, A.M., and Larroche, J.C.: Differential growth between the fetal brain and its infratentorial part. Early Hum. Dev., 23:27, 1990.)

Tabla 2: De: Handbook of Pediatric autopsy Pathology. Enid Gilbert-Barness. Editorial Humana Press 2005

Gestational Development of the Cerebral Hemispheres			
Gestational age (wk)	No. examined	Sulci and fissures	Gyri
10-15	6	Interhemispheric fissure, hippocampal sulcus, sylvian fissure, transverse cerebral fissure, callosal sulcus	
16-19	13	Parietooccipital fissure, olfactory sulcus, circular sulcus, cingulate sulcus, calcarine fissure	Gyrus rectus, insula, cingulate gyrus
20-23	41	Rolandic sulcus, collateral sulcus, superior temporal sulcus	Parahippocampal gyrus, superior temporal gyrus
24-27	46	Prerolandic sulcus, middle temporal sulcus, postrolandic sulcus, interparietal sulcus, superior frontal sulcus, lateral occipital sulcus	Prerolandic gyrus, middle temporal gyrus, postrolandic gyrus, superior and inferior parietal lobules, superior and middle frontal gyri, superior and inferior occipital gyri, cuneus and lingual gyrus, fusiform gyrus
28-31	36	Inferior temporal sulcus, inferior frontal sulcus	Inferior temporal gyrus, triangular gyrus, medial and lateral orbital gyri, callosomarginal gyrus, transverse temporal gyrus, angular and supramarginal gyri, external occipitotemporal gyrus
32-35	29	Marginal sulcus, secondary superior, middle, and inferior frontal, superior and middle temporal, superior and inferior parietal, prerolandic and postrolandic, superior and inferior occipital sulci and gyri, insular gyri	Paracentral gyrus
36-39	31	Secondary transverse and inferior temporal and cingulate sulci and gyri, tertiary superior, middle, and inferior frontal and superior parietal sulci and gyri	Anterior and posterior orbital gyri
40-44	29	Secondary orbital, callosomarginal, and insular sulci and gyri, tertiary inferior temporal and superior and inferior occipital gyri and sulci	

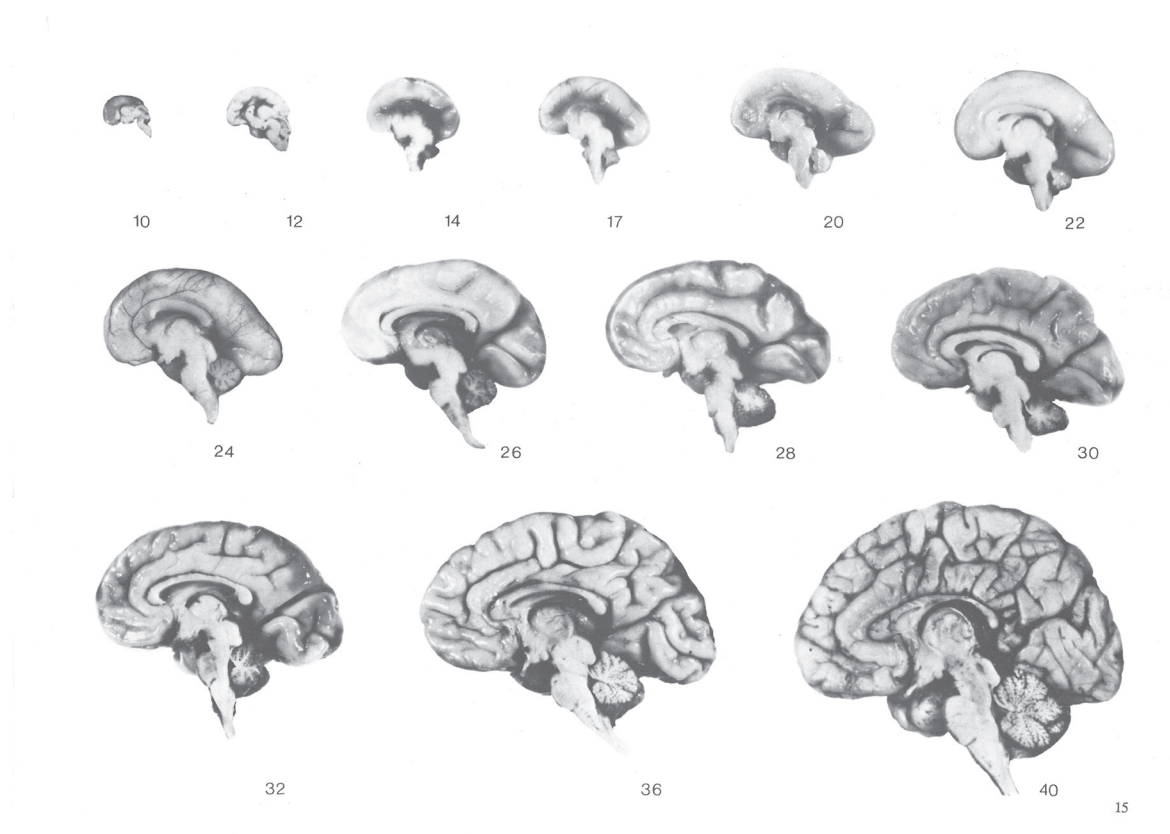
From: Gilles FH, Leviton A, Dooling EC. The developing human brain—growth and epidemiologic neuropathology. Boston: John Wright, 1983, with permission.

Tabla 3: Clasificación de consenso de la Internacional League Against Epilepsy (ILAE) para las displasias corticales focales

DCF Tipo I (aislada)	DCF Ia: laminación cortical radial anómala	DCF Ib: Laminación cortical tangencial anómala	DCF Ic: Laminación cortical anómala radial y tangencial	
DCF Tipo II (aislada)	DCF IIa: con neuronas dismórficas	DCF IIb: Con neuronas dismórficas y células balonizantes		
DCF Tipo III (asociada con otra lesión principal)	DCF IIIa: anomalías en la laminación cortical del lóbulo temporal asociado a esclerosis hipocámpal	DCF IIIb: anomalías en la laminación cortical adyacente a un tumor glial o glió-neuronal	DCF IIIc: anomalías en la laminación cortical adyacente a una malformación vascular	DCF IIId: anomalías en la laminación cortical adyacente a cualquier otra lesión adquirida en la edad temprana: trauma, lesión isquémica...

De: Neuropathological work-up of focal cortical dysplasias using the new ILAE consensus classification system – practical guideline article invited by the Euro-CNS Research Committee I. Blümcke and A. Mühlebner. Clinical Neuropathology, Vol. 30 – No. 4/2011 (164-177)

Tabla 4: Desarrollo del cerebro en el periodo fetal, por semanas de gestación. De: Le développement du cerveau foetal humain: Atlas anatomique. Allison Feer-Higgins. Masson. 1987



Recomendaciones en Neuropatología Oncológica

Miguel Angel Idoate Gastearena.

Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona

I. CONSIDERACIONES PRELIMINARES. CONVENIENCIA DE PROTOCOLIZACIÓN DEL INFORME ANATOMOPATOLÓGICO. RELEVANCIA DE LA CORRELACIÓN CON LA NEUROIMAGEN.

El informe anatomopatológico en neurooncología **debe integrar** todos aquellos datos de la neoplasia que aporten información diagnóstica, pronóstica y predictiva¹⁻³. El informe anatomopatológico incorpora datos de diverso tipo, como los propiamente histológicos, los inmunohistoquímicos y los moleculares, y las necesarias correlaciones clínico-patológicas. El estudio anatomopatológico debe ser *completo y actualizado*, y debe recoger todos aquellos datos clínicos que se consideren importantes para el diagnóstico y tratamien-

Tabla 1: Aspectos a valorar en el estudio anatomopatológico

Datos clínicos a valorar	Significado
Edad del paciente	Tiene valor pronóstico
Duración de la sintomatología	Util en el diagnóstico
Estado funcional neurológico (Índice de Karnofsky)	Tiene valor pronóstico
Registro de biopsias previas	Relevante para el diagnóstico
Localización de la lesión (intraxial, extraxial, hemisferio cerebral, etc). Indicar expresamente si existe multifocalidad o/y bilateralidad.	Relevante para el diagnóstico
Características esenciales de la lesión en neuroimagen. (Resonancia magnética, PET, TAC)	Calcificaciones, carácter sólido-quístico, focalidad, presencia de áreas calientes (hot spots en PET, perfusión en MRI) en la lesión. Heterogeneidad lesional.
Existencia o no de historia familiar de cáncer cerebral o de otros órganos.	Identificación de los síndromes hereditarios
Situación de inmunodeficiencia.	Proclividad a desarrollar neoplasia linfoide
Antecedentes personales de otras neoplasias	Identificación de los síndromes hereditarios
Tratamiento de la lesión recibido por el paciente previo a la cirugía.	Relevante de cara al diagnóstico
Aspecto macroscópico de la lesión en la cirugía	Información útil para el diagnóstico
Procedimiento de obtención de la muestra	Tiene valor pronóstico
Grado de resección tumoral (biopsia, subtotal, total)	Tiene valor pronóstico

to del paciente afecto de un tumor neurológico. El patólogo debe acceder a estos datos para un correcto estudio anatomopatológico (*tabla 1*). Es conveniente que los *datos moleculares estén incluidos en el informe anatomopatológico* y no en una hoja separada de dicho informe.

Es muy importante **que la muestra sea representativa del proceso**. La obtención de la muestra tumoral cerebral se lleva a cabo frecuentemente mediante neuronavegador^{4,5}, lo que puede ocasionar que en lesiones relativamente pequeñas, el neurocirujano no pueda asegurar que ésta sea correcta. Por ello, el patólogo debe antes de nada valorar la cantidad de muestra recibida respecto al tamaño de la lesión (radiológica) y en qué medida la muestra es representativa. También deberá tener en cuenta si la lesión es heterogénea (aspecto radiológico) para tener así una idea cabal de cómo enfrentarse a ella para el diagnóstico.

La información macroscópica tumoral se obtiene frecuentemente mediante técnicas de neuroimagen. Por ello, *la correlación patorradiológica* es fundamental. El patólogo debe dedicar el tiempo necesario a valorar los estudios de neuroimagen e intentar establecer una correlación con los hallazgos histopatológicos. Un buen foro en el que discutir los hallazgos de neuroimagen es el *Comité o Grupo de Trabajo hospitalario de tumores neurológicos*, un lugar de diálogo y de interacción del patólogo con sus colegas clínicos.

En el informe se debe indicar la **localización del tumor** cerebral (frontal, parietal, temporal, occipital) y si existe o no multifocalidad. También se debe dejar constancia del procedimiento de obtención, craneotomía o biopsia estereotáxica.

Es conveniente explicar en el informe de forma breve **cómo se ha manipulado la muestra** previa a la fijación. Se debe indicar si se realizó estudio intraoperatorio, el procedimiento utilizado y el diagnóstico emitido. También si se han congelado muestras para estudio molecular (en este caso siempre se debe asegurar que *la muestra congelada sea representativa del proceso mediante un corte teñido o por extensión celular previa a la congelación*) y si se han tomado muestras para microscopía electrónica.

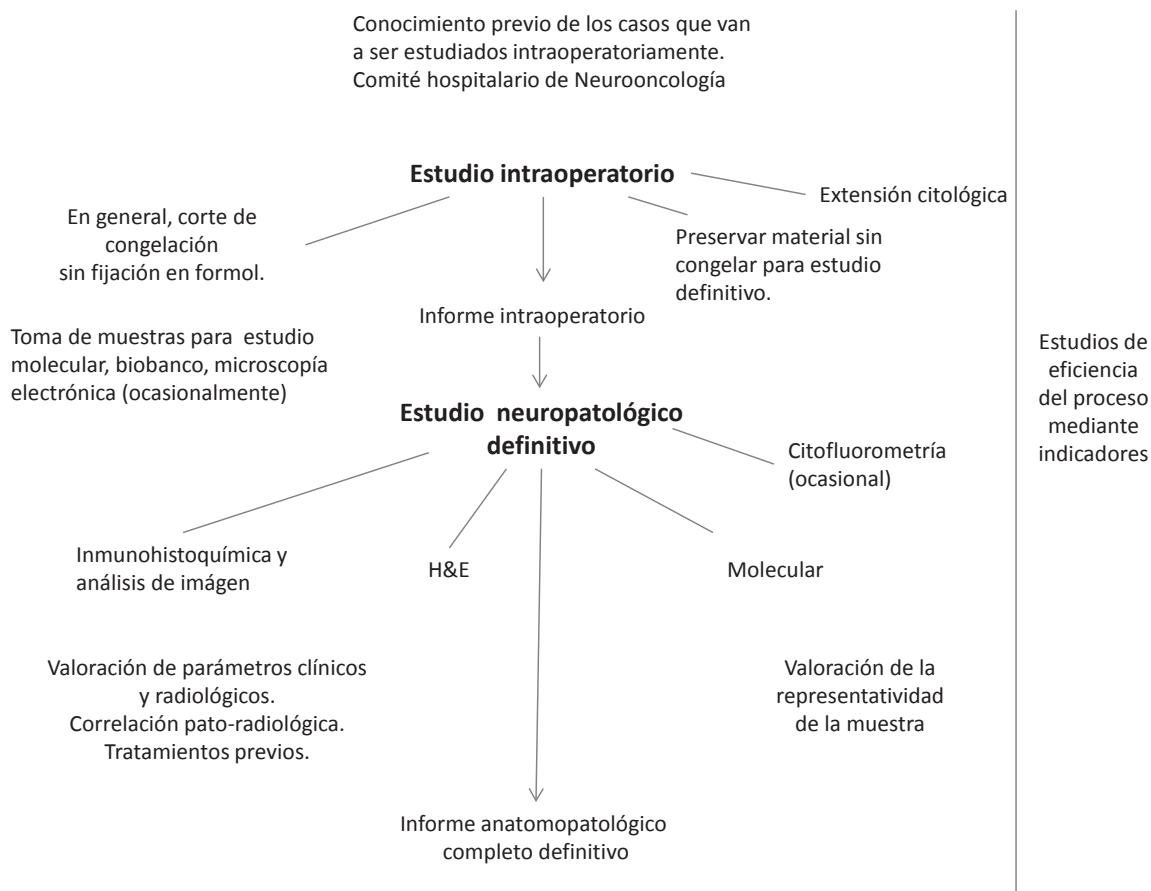
El informe debe recoger todos aquellos datos considerados relevantes para un diagnóstico anatomopatológico completo y actualizado de los tumores del sistema nervioso y estar **protocolizado y consensuado** con los responsables del tratamiento de los pacientes (*tabla 2*). El protocolo anatomopatológico no debe ser rígido sino que debe adecuarse a las singularidades del propio hospital y, por qué no, a la manera personal de elaborar los informes. Existen varios protocolos interesantes como el propuesto por el Colegio Americano de Patólogos (CAP)³. Antes de emitir el informe anatomopatológico propiamente dicho es conveniente considerar una serie de aspectos que aparecen recogidos de forma resumida en la *tabla 2*.

Tabla 2: Datos que no deben faltar en un informe neuropatológico.

Parámetros
Descripción macroscópica ajustada al etiquetado (topografía lesional, comportamiento en la fluorescencia, PET o MRI, etc) de las muestras anatomopatológicas
Descripción detallada de las muestras anatomopatológicas según lo especificado en el etiquetado de las muestras
Referencia a los cambios relacionados con el tratamiento (si los hay)
Valoración de la representatividad de la muestra
Datos inmunohistoquímicos o/y moleculares relevantes
Diagnóstico del tumor (OMS)
Gradación del tumor (OMS)

En resumen, el estudio anatomopatológico de los tumores cerebrales es una actividad reglada en la que intervienen muchos factores, desde el conocimiento de los casos clínicos previo a la cirugía hasta la firma del informe. Para ilustrar esta actividad se propone el **algoritmo** de la *figura 1*.

Figura 1. Algoritmo que recoge el proceso diagnóstico de los tumores neurológicos.



II. EL ESTUDIO NEUROPATOLÓGICO DEBE APOYARSE EN UNA BUENA CALIDAD DE LAS PREPARACIONES HISTOLÓGICAS Y DE LA TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA.

En el estudio neuropatológico *es muy importante la cuidadosa evaluación de los detalles celulares*. Es recomendable que se reserve material destinado al diagnóstico definitivo sin congelación previa por los artefactos que esto produce.

Un buen examen histopatológico requiere de *una meticulosa valoración de la histopatología en la tinción con H&E*. Es muy importante que el corte histológico y la tinción con H&E sean de calidad para llegar a un correcto diagnóstico. *La inmunohistoquímica* es una herramienta inestimable para el patólogo. A través de la ingeniosa combinación de diferentes anticuerpos el patólogo puede conseguir resolver difíciles dilemas diagnósticos. Pero, por otra parte, se debe ser muy precavido a la hora de la interpretación de los resultados inmunohistoquímicos porque pueden ser engañosos debido a la falta de estandarización de las técnicas y a que existen muchas variables (fijación, procesamiento del tejido, recuperación antigénica, diluciones, etc) que pueden afectar a la inmunotinción.

III. CLASIFICACIÓN DE LA NEOPLASIA NEUROLÓGICA DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE LA OMS.

La clasificación actual de los tumores cerebrales está recogida en el libro de la OMS de los tumores del sistema nervioso central⁸. Cada entidad nosológica tiene su propio código que está asignado por la *International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O)* y la *Sistematized Nomenclature of Medicine (SNOMED)*. En la tabla 3 se recogen la clasificación de los tumores neurológicos según la OMS.

Tabla 3: Clasificación y gradación de los tumores neurológicos según la OMS (2007)

Tipos de tumores	Grados de la OMS
Tumores astrocitarios	I-IV
Tumores oligodendrogiales	II y III
Tumores oligoastrocitarios	II y III
Tumores ependimarios	I-III
Tumores del plexo coroideo	I-III
Otros tumores neuroepiteliales	I y II
Tumores neuronales y mixtos glioneuronales	I-III
Tumores de la región pineal	I-IV
Tumores embrionarios	IV
Schwannoma	I
Neurofibroma	I
Perineurioma	I-III
Tumor maligno de la vaina de los nervios	II-IV
Tumores de células meningoteliales	I-III
Hemangiopericitoma y variante anaplásica	II y III
Hemangioblastoma	I
Germinomas	IV
Tumores de la región sellar	I

Hay que ser conscientes de que todos los tumores no pueden ser clasificados. Si, por ejemplo, un tumor no puede ser claramente diferenciado entre astrocitoma u oligodendroglioma, es preferible utilizar un término genérico, menos comprometido, como podría ser glioma de grado II.

IV. GRADACIÓN HISTOLÓGICA DE ACUERDO AL CRITERIO DE LA OMS.

La estadificación del tumor de acuerdo al sistema TNM⁹ no es útil en las neoplasias cerebrales. Esto se debe a que el tamaño tumoral tiene una importancia menor respecto a otros parámetros como el grado y la localización tumoral. Por otra parte, no se realiza ni tiene sentido la evaluación ganglionar. Además, son tumores que por lo general no metastatizan fuera de la cavidad craneal, por lo que el parámetro "metástasis" tampoco es válido para valorar la agresividad clínica del proceso tumoral. El problema clínico que plantean los tumores cerebrales se debe básicamente a la invasión tisular.

La mayoría de los tumores primarios cerebrales típicos tienen asignado un *grado tumoral* según convenio de la OMS (tabla 3). No siempre es posible adjudicar un grado al tumor, por lo que cuando la muestra no lo permite, se debería indicar que la gradación no es posible. Es cierto que en el diagnóstico va implícito el grado, pero es conveniente indicarlo de todas maneras, dado que es un dato pronóstico muy relevante por sí mismo. Así, la gradación histológica se establece como grados I a IV (debe indicarse con números romanos, no con números arábigos):

- El *grado I* implica tumores que son potencialmente curables y con baja capacidad proliferativa.
- El *grado II* identifica tumores que tienden a recidivar o a transformarse en un grado mayor. Los pacientes afectos de este tipo de tumores sobreviven por lo general más de 5 años.

- Los tumores *grado III* son tumores malignos, que presentan atipia nuclear y actividad mitótica. La supervivencia en este caso es de 2-3 años.
- En los tumores de *grado IV* la evolución es fatal en un corto plazo de tiempo sin tratamiento (menos de un año). Estos tumores presentan atipia, necrosis y figuras mitóticas. Por ejemplo, los meduloblastomas y germinomas cerebrales son tumores muy agresivos y por lo tanto pertenecen a este grupo, pero su pronóstico se ha modificado de una forma radical gracias al tratamiento radioquimioterápico. Los glioblastomas también pertenecen a este grupo, y hasta la fecha el tratamiento radioquimioterápico protocolizado no ha conseguido modificar por lo general de manera significativa el pronóstico.

Los grupos tumorales que presentan una mayor variedad de grados son los tumores neuroepiteliales o gliomas y los meningiomas. En el caso de los meningiomas, el grado II implica la presencia de figuras mitóticas ($\geq 4/10$ CGA) de al menos 3 de los siguientes parámetros: crecimiento difuso, componente de células pequeñas, macronucléolos, hiper celularidad y necrosis espontánea (no isquémica). En los meningiomas grado III, las figuras mitóticas son $\geq 20/10$ HPF o /y presentan una franca anaplasia.

Es probable que en el futuro, en función de un mayor conocimiento de los tumores, se pueda desligar subgrupos de tumores que ahora tienen asignado un grado de la OMS, pero que en función de sus características moleculares pasen a tener otro. Un ejemplo de esto pueden ser los glioblastomas secundarios (5-10% del total de glioblastomas) que a pesar de que les corresponden un grado IV, su perfil molecular es distinto y su pronóstico es más propio de un grado III (e incluso II¹⁰). Otro ejemplo son los astrocitomas grado II sin mutación *IDH1* cuyo pronóstico no es el propio de dicho grupo tumoral, sino que se comportan más bien como un grado III, probablemente por su proclividad a transformarse.

V. PROCEDIMIENTO A SEGUIR EN EL ESTUDIO INTRAOPERATORIO EN NEUROONCOPATOLOGÍA.

El estudio intraoperatorio de los tumores cerebrales es delicado y requiere de experiencia y de una adecuada información, que procede de averiguar los datos más relevantes de la historia clínica del paciente, las características en neuroimagen de la lesión en estudio, en los términos indicados en anteriores apartados (*tablas 1 y 2*) y de una correcta técnica. Con estos requisitos, la correlación entre el diagnóstico intraoperatorio y el definitivo es excelente, con una concordancia del 96%¹¹. Las causas de error más frecuentes son los carcinomas metastásicos, los tumores neuroectodérmicos primitivos, los sarcomas metastásicos y la gliomatosis. Dada la importancia que tiene el estudio intraoperatorio, el grado de concordancia entre el diagnóstico intraoperatorio y el definitivo puede establecerse como un indicador de calidad.

El objetivo fundamental del estudio intraoperatorio es *asegurar que la muestra obtenida por el neurocirujano es válida para diagnóstico*. Otros objetivos son diferenciar entre benignidad y malignidad del proceso tumoral, diferenciar tumor primario de metastásico, identificar un proceso infeccioso, diagnosticar un proceso linfoproliferativo y, en la medida de lo posible, intentar realizar un diagnóstico lo más aproximado posible de la naturaleza del tumor. En el caso de que resultara un proceso infeccioso se debe indicar al cirujano que remita muestra estéril para estudio microbiológico y en el caso de que fuera un proceso linfóide reservar material en fresco para estudio de citofluorometría.

Para una correcta toma de muestras para el estudio neuropatológico, especialmente de los glioblastomas, es útil la técnica quirúrgica con fluorescencia mediante la administración al paciente previa a la cirugía de 5-ALA, de nombre comercial Gliolan®. De esta manera, es posible visualizar en fresco, en el propio acto quirúrgico, si la muestra obtenida es realmente tumoral, según que el tejido emita o no una viva fluorescencia^{12,13}. La fluorescencia rosa en el campo quirúrgico se correlaciona con el borde del tumor.

La metodología utilizada en el estudio intraoperatorio es la extensión celular y el corte de congelación teñido con H&E o azul de toluidina. Aunque algunos autores propugnan sólo la utilización de la extensión celular, parece conveniente, en la medida que la muestra lo permita, utilizar ambos procedimientos. En general, la extensión citológica es una herramienta muy útil cuando se tiene experiencia. Las extensiones citológicas se pueden obtener mediante varios procedimientos que incluyen el contacto de la muestra con el porta (*touch*), la extensión de la muestra sobre el cristal (*smear*) o el aplastamiento de la muestra contra el

portaobjetos (*squash*). Luego los cristales se tiñen con H&E. La tinción del tumor cerebral infringe en el tejido marcados artefactos, lo cual se debe a la singularidad de la composición del sistema nervioso central que es "como un mar de agua envuelto en tubos de grasa, con algo de proteína"¹⁴. Además, salvo en circunstancias especiales, es desaconsejable fijar en formol los cortes del tumor congelado previo a la tinción porque induce aún mayores artefactos. Una interesante alternativa es evitar la fijación del corte congelado en formol y cuadruplicar los tiempos de tinción con H&E.

VI. INDICADORES DE EFICIENCIA Y DE CONTROL DE CALIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE LOS TUMORES NEUROLÓGICOS.

Considero muy conveniente el que exista un sistema de garantía de calidad de la actividad diagnóstica neurooncopatológica. Los indicadores son de variado tipo y buscan establecer unos *tiempos máximos de respuesta en el diagnóstico intraoperatorio y definitivo*, un *control de la calidad técnica* (fundamentalmente aplicado a la inmunocitoquímica y a las determinaciones moleculares), un *control de la calidad de diagnóstico* a través de unos *indicadores* (por ejemplo, el grado de concordancia entre el diagnóstico intraoperatorio y el diagnóstico definitivo) y una estimación del grado de *cumplimiento de los protocolos de diagnóstico*. Es importante definir los propios estándares de calidad e intentar mantener o reducir estos tiempos en función de las posibilidades. (tabla 4).

Tabla 4: Indicadores de eficiencia y de control de calidad en el diagnóstico de los tumores neurológicos.

Indicadores
<i>Grado de cumplimiento del tiempo máximo de respuesta estudio intraoperatorio</i>
<i>Grado de cumplimiento del tiempo máximo de respuesta estudio definitivo</i>
<i>Control de calidad en inmunohistoquímica (anticuerpos seleccionados)</i>
<i>Control de calidad en las determinaciones moleculares</i>
<i>Grado de concordancia entre el diagnóstico intraoperatorio y el definitivo</i>
<i>Grado de cumplimiento de los protocolos diagnósticos</i>
<i>Frecuencia de asistencia a las reuniones del Comité de Neurooncología</i>
<i>Revisión al azar de los diagnósticos neuropatológicos</i>

VII. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS MOLECULARES E INMUNOHISTOQUÍMICAS RECOMENDABLES EN LA PRÁCTICA ASISTENCIAL.

Además de la histopatología convencional, el patólogo debería disponer de las técnicas inmunocitoquímicas y moleculares necesarias para un adecuado diagnóstico diferencial y de valoración pronóstica y predictiva de respuesta a la terapia en el ámbito de la neurooncopatología. Es cierto que en la actualidad existen escasos marcadores moleculares predictivos pero es de esperar que al ritmo que avanza el conocimiento en esta materia, podamos disponer de nuevos marcadores, probablemente en forma de *paneles mixtos moleculares e inmunohistoquímicos diagnósticos, pronósticos y predictivos*.

Existe en la actualidad cierta *confusión* sobre qué pruebas moleculares tumorales son necesarias realmente en la práctica rutinaria^{15,16}. Existen al menos dos contextos clínicos distintos en la práctica asistencial: la convencional y la de los ensayos clínicos. Este último requiere de una más exigente caracterización molecular del tumor. En la actualidad *ninguno de los biomarcadores de aplicación clínica es de uso obligatorio en la práctica rutinaria*. Sin embargo, en mi opinión, esto no quita para que el patólogo disponga de una serie de técnicas moleculares necesarias para un diagnóstico más seguro y una estimación más precisa del pronóstico y de

la predicción de respuesta al tratamiento del tumor neurológico. Si el patólogo no introduce estos biomarcadores se encontrará con que otros profesionales lo harán, lo que le puede llevar verse marginado en esta rápida evolución de los avances en esta materia. Puede concluirse que el patólogo debe disponer y aplicar con prudencia y sentido común una serie de las técnicas necesarias para la detección de ciertos marcadores inmunohistoquímicos y moleculares que le serán de valiosa ayuda en su práctica clínica.

De todos los biomarcadores que se recogen en la literatura científica, existen en la actualidad dos muy prometedores **predictivos de respuesta al tratamiento**, y que son:

1. El estado de *metilación de la enzima metil-guanil-metil-transferasa* (MGMT), que se aplica al glioblastoma, especialmente al que afecta al paciente de edad avanzada, y que también es un marcador pronóstico
2. La *codelección combinada 1p/19q*, que se aplica al oligodendroglioma, con especial potencial predictor de respuesta al tratamiento en el oligodendroglioma anaplásico¹⁶.

Estos marcadores están ya protocolizados en muchos hospitales americanos y europeos y forman ya parte de la práctica rutinaria.

Entre las determinaciones moleculares **diagnósticas y pronósticas** relevantes cabe destacar tres:

1. La *mutación del gen IDH* (mutaciones de los genes *IDH1* e *IDH2*), que es propia de los gliomas de grados II y III, y que permite identificar a los *astrocitomas de grado II de peor pronóstico (IDH1 no mutado)* y a los raros glioblastomas de grado IV de mejor pronóstico (*IDH1 mutado*)
2. La ya comentada *codelección combinada 1p/19q*, que permite identificar a los oligodendrogliomas (grados II y III)
3. La *mutación V600E del gen BRAF* que sirve de ayuda en el difícil diagnóstico del xantastrocitoma pleomórfico^{3,17}.

Uno de los problemas fundamentales a la hora de establecer el valor pronóstico o predictivo de los marcadores es que *las técnicas moleculares no están estandarizadas*, lo que pone en entredicho la reproducibilidad de los resultados¹⁶. Este es un aspecto en el que es necesario avanzar y es un requisito esencial para la validación de los biomarcadores en la práctica asistencial. De hecho, según un valioso estudio europeo¹⁶, de todas las técnicas aplicadas actualmente en la determinación de los biomarcadores, es la detección inmunohistoquímica de la mutación del gen *IDH1*, y no la secuenciación del gen, *la única técnica con suficiente nivel de evidencia para la práctica clínica rutinaria*. Por ello, el análisis mutacional del gen *IDH1* podría hacerse de entrada mediante el estudio inmunohistoquímico frente a la proteína *IDH1*, dejando el estudio mutacional del gen reservado para los gliomas en los que el resultado inmunocitoquímico fuera negativo¹⁷, consiguiendo con ello abaratar costes y dando mayor eficiencia al proceso.

A continuación, en la *tabla 5* se recogen los biomarcadores de utilidad clínica demostrada y en la *tabla 6* otros marcadores de interés, pero de menor relevancia.

Tabla 5: Biomarcadores de utilidad clínica demostrada con nivel de evidencia suficiente*.

Biomarcador	Técnicas	Aplicación clínica
Mutación IDH1/IDH2	Inmunohistoquímica frente a IDH1 (clon R132H)/PCR a tiempo real/Secuenciación Sanger	Marcador diagnóstico y pronóstico en astrocitomas (grados II, III y IV). Diagnóstico diferencial entre tumor astrocitario y gliosis.
Metilación de la enzima MGMT*	Pirosecuenciación/PCR-análisis específico de metilación (PCR-MSP)	Marcador pronóstico en glioblastomas y predictivo en glioblastomas del anciano. Util en el diagnóstico diferencial entre recidiva versus pseudoprogresión (radiológica) tumoral**.

Biomarcador	Técnicas	Aplicación clínica
Codeleción 1p/19q*	LOH y análisis de fragmentos, FISH	Marcador diagnóstico de los oligodendrogliomas (grados II y III). Marcador pronóstico en oligodendrogliomas y predictivo de respuesta en el oligodendroglioma anaplásico.
Amplificación de C-MYC	FISH	Marcador pronóstico en meduloblastoma.
Mutación de beta-catenina	Inmunohistoquímica en combinación con secuenciación	Marcador pronóstico en meduloblastoma.

(*) También reconocidos en la clasificación TNM de los tumores cerebrales (OMS, 2007). (**) De momento la MGMT sólo es un marcador de ayuda en este diagnóstico diferencial y no existe suficiente nivel de evidencia.

Tabla 6: Otros marcadores moleculares de interés en Neuropatología oncológica.

Biomarcador	Técnica	Aplicación
Gen BRAF fusión/duplicación	RT-PCR/FISH	Util en el diagnóstico de los astrocitomas pilocíticos
Mutación BRAF V600E	Pirosecuenciación/ secuenciación/Tiempo-real/ Inmunohistoquímica	Util en el diagnóstico diferencial entre el xantastrocitoma pleomórfico y el glioblastoma.
Amplificación del gen EGFR	SISH/FISH	Util en el diagnóstico diferencial entre oligodendroglioma anaplásico y glioblastoma de células pequeñas. Util en el diagnóstico del glioblastoma escasamente representado en la muestra.
Monosomía cromosoma 6	FISH	Marcador pronóstico en meduloblastoma
Reordenamiento receptor T/B	PCR	Util en el diagnóstico de los linfomas cerebrales de bajo grado
Reordenamiento gen EWSR1	FISH	PNET/Ewing meníngeo
Deleción 10q23.3 (región gen PTEN)	LOH	Marcador pronóstico en glioblastomas. Marcador de utilidad en la diferenciación entre grados II y III en los astrocitomas.

No es absolutamente necesario que los Servicios de Anatomía patológica dispongan de todas las técnicas, dejando las más complejas o aquellas que se utilicen de forma infrecuente accesibles a través de un acuerdo con un centro que disponga de ellas. Así, la *conexión en red en el campo de la disponibilidad de tecnología en Patología* se impone como un objetivo necesario.

En lo relativo a la inmunohistoquímica, algunos anticuerpos deben estar accesibles, como los dirigidos frente a las proteínas IDH1, ATRX, GFAP, Ki-67, p53, beta-catenina, INI-1 y BRAF V600E^{3,18}, entre otros. De todas las técnicas inmunohistoquímicas citadas, el anticuerpo frente a IDH1 es a criterio de varios estudios europeos^{16,19}, el método validado más importante para la aplicación clínica en oncopatología de los actualmente disponibles.

A través de un estudio reciente bien planificado¹⁹ un grupo europeo han propuesto un interesante algoritmo en base a un **panel simple combinado inmunohistoquímico y molecular**, que incluye dos anticuerpos (IDH1 y ATRX) y el estudio de la codeleción 1p/19q, muy útil en el diagnóstico diferencial de los gliomas, y que plantea cuatro posibles situaciones de la manera siguiente:

1. Si el glioma es positivo para IDH1 y negativo para ATRX se trata de un tumor astrocitario, con el grado que le corresponda según morfología.
2. Si el resultado es positivo para ambos marcadores en el glioma se requiere de la determinación de la codeleción 1p/19q; si hay codeleción es un oligodendroglioma (grado II o III en función de la histología); si no la hay es un tumor astrocitario.
3. Si el resultado es sólo positivo para ATRX se hará también el estudio de la codeleción: si hay codeleción es un oligodendroglioma; si no la hay se debería estudiar la mutación *IDH1/IDH2* por secuenciación, de tal forma que si existe mutación es un tumor astrocitario y si no la hay, es un *astrocitoma grado II o III no mutado* o un *glioblastoma no mutado (primario)*, en función también de su morfología.
4. Finalmente, en el caso de que no exista expresión de ninguno de los dos anticuerpos es un tumor astrocitario y se procedería al estudio de la mutación por secuenciación del gen *IDH1/IDH2* como se ha indicado anteriormente.

Otra aplicación de la inmunohistoquímica es en el diagnóstico diferencial entre gliosis y astrocitoma de bajo grado, que constituye uno de los problemas relevantes en la práctica neuropatológica^{20,21}. La utilización de los anticuerpos frente a IDH1, p53 y Ki-67, solos o combinados en forma de panel, es muy útil. El Ki-67 es también un marcador muy útil en el diagnóstico diferencial entre astrocitomas de grado II y grado III. También la aplicación de FISH para la demostración de amplificación del cromosoma 7 es útil en este diagnóstico diferencial²⁰. La ausencia de expresión tumoral de INI-1 es también de ayuda especialmente en el diagnóstico del tumor teratoide/rabdoide atípico²².

La relación de anticuerpos no convencionales más relevantes para la práctica clínica en neurooncología figura en la *tabla 7*.

Tabla 7: Anticuerpos no convencionales útiles en la práctica clínica en neurooncología.

Anticuerpo	Aplicación clínica
IDH1	Identificación de gliomas de grado II de peor pronóstico. Diagnóstico diferencial entre glioma y gliosis. Identificación del glioblastoma secundario.
ATRX	Identificación de gliomas de grado II de peor pronóstico. Identificación del glioblastoma secundario
INI-1	Diagnóstico del tumor teratoide/rabdoide atípico
BRAF V600E	Xantastrocitoma pleomórfico. Astrocitoma pilocítico extracerebeloso.
Beta-catenina	Marcador pronóstico en meduloblastoma

VIII. CONVENIENCIA DE DISPONER DE UN BIOBANCO ACREDITADO DE TUMORES CEREBRALES.

Es muy recomendable que se disponga de un banco con muestras congeladas de tumores neurológicos de los pacientes que esté integrado en el biobanco del centro hospitalario. La organización en red de los biobancos de tumores cerebrales aporta un material muy valioso para la investigación aplicada a los pacientes y la investigación conjunta entre varios centros hospitalarios. Este material, así como el archivado como bloques de parafina, es muy necesario para llevar a cabo los muy deseables estudios multicéntricos para poder disponer conjuntamente de suficiente casuística y tecnología y proyectar ambiciosos estudios de investigación. En este sentido, considero muy necesaria la *colaboración*

entre los patólogos para la consecución de estudios multicéntricos relevantes de investigación aplicada, de los que todavía andamos escasos en nuestro país. Parece conveniente avanzar en este sentido con el apoyo de la SEAP

IX. SOBRE LA NECESIDAD DE TRABAJAR EN EQUIPO EN EL COMITÉ DE NEUROONCOLOGÍA.

Es un requisito esencial para la labor del diagnóstico, tratamiento y seguimiento en neurooncología, la constitución de una unidad, comité o área interdepartamental hospitalaria, de carácter multidisciplinar, con la obligación de velar por los pacientes afectados de tumores del sistema nervioso con calidad y eficiencia. Deberá contar con al menos un facultativo del Servicio de Anatomía Patológica responsable del diagnóstico en neurooncopatología, que tendrá un papel relevante en este grupo. El comité constituye un entorno ideal para que el patólogo obtenga la información que precisa para la elaboración de sus informes y sea, al mismo tiempo, un lugar de formación en el contacto con otras disciplinas. El neurooncopatólogo debería tener una dedicación continuada y una formación mínima acreditada obtenida en un centro de referencia o bien mediante la formación obtenida con la asistencia a cursos específicos sobre esta materia. Asimismo, esta formación se potencia mediante la experiencia a través de la participación activa en las sesiones de los comités.

X. CONVENIENCIA DE LA CREACIÓN DE UNA RED DE CONSULTAS APOYADO EN LA PATOLOGÍA DIGITAL.

La Neuropatología constituye un área de conocimiento en la que por la dificultad que entraña puede ser de gran interés las interconsultas, las cuales se ven muy facilitadas por el uso de la telepatología o patología digital. A través del uso de escáneres que permiten la digitalización de las preparaciones y la conexión a servidores se puede llevar a cabo el intercambio de las imágenes histológicas, evitando así el tiempo que se emplea en el envío de preparaciones. En este sentido, hay interesantes experiencias en el ámbito de la neurooncología²³. Sería, por lo tanto, muy conveniente *la conexión en red de los servicios de anatomía patológica para la facilitación de estas interconsultas*.

CONCLUSIÓN.

Parece conveniente establecer un protocolo anatomopatológico en neurooncología ajustado a las necesidades propias del Servicio de Anatomía patológica del que se trate y a sus peculiaridades, consensuado con los responsables de otras especialidades implicadas, en el que se recoja toda la información necesaria para un informe completo y actualizado.

Con esta guía, que necesariamente es provisional y que deberá modificarse en función de las nuevas aportaciones científicas, se ha pretendido orientar al patólogo, en aspectos tales como en la elaboración de un informe anatomopatológico completo, en el estudio intraoperatorio, en la puesta en marcha de indicadores de eficiencia, en la conexión con otros patólogos, en la integración con otros profesionales en una auténtica actividad multidisciplinar y, en definitiva, en hacer que su importante labor rinda todo lo que puede dar en el servicio al paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Riemenschneider MJ1, Louis DN, Weller M, Hau P. Refined brain tumor diagnostics and stratified therapies: the requirement for a multidisciplinary approach. *Acta Neuropathol.* 2013 Jul; 126(1):21-37.
2. Martin Algarra S, Aristu JJ, Idoate MA. Factores pronósticos en los tumores cerebrales. En: Factores pronósticos en Oncología. 2 ed. Mc Graw Hill-Interamericana. Madrid. 2005.

3. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Tumors of the Brain/Spinal Cord Protocol applies to all primary neoplasms of the brain/spinal cord/peripheral nerve and pituitary. Metastatic tumors are not included. American College of Pathology. January 30, 2013. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/CNS_13protocol.pdf
4. Roberts DW, Hartov A, Kennedy FE, Miga MI, Paulsen KD. Intraoperative brain shift and deformation: a quantitative analysis of cortical displacement in 28 cases. *Neurosurgery*. 1998 Oct;43(4):749-58.
5. Hall WA. The safety and efficacy of stereotactic biopsy for intracranial lesions. *Cancer*. 1998 May 1;82(9):1749-55.
6. Idoate MA, Díez Valle R, Echeveste J, Tejada S. Pathological characterization of the glioblastoma border as shown during surgery using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence. *Neuropathology*. 2011 Dec;31(6):575-82.
7. Widhalm G. Intra-operative visualization of brain tumors with 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence. *Clin Neuropathol*. 2014 Jul-Aug;33(4):260-78.
8. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Editores Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. Lyon. 2007.
9. WHO. Cancer Staging Handbook. From the AJCC Cancer Staging Manual. 7ª edición. Springer. 2007.
10. Ohgaki H1, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res*. 2013 Feb 15;19(4):764-72.
11. Uematsu Y, Owai Y, Okita R, Tanaka Y, Itakura T. The usefulness and problem of intraoperative rapid diagnosis in surgical neuropathology. *Brain Tumor Pathol*. 2007;24(2):47-52. Epub 2007 Nov 28.
12. Widhalm G, Minchev G, Woehrer A, Preusser M, Kiesel B, Furtner J, Mert A, Di Ieva A, Tomanek B, Prayer D, Marosi C, Hainfellner JA, Knosp E, Wolfsberger S. Strong 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence is a novel intraoperative marker for representative tissue samples in stereotactic brain tumor biopsies. *Neurosurg Rev*. 2012 Jul;35(3):381-91.
13. Kremer P, Fardanesh M, Ding R, Pritsch M, Zoubaa S, Frei E. Intraoperative fluorescence staining of malignant brain tumors using 5-aminofluorescein-labeled albumin. *Neurosurgery*. 2009 Mar;64(3 Suppl):53-60.
14. Joseph JT. *Diagnostic Neuropathology Smears*. Lippincott Williams & Wilkins. Filadelfia. 2007.
15. Jansen M1, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurol*. 2010 Jul;9(7):717-26.
16. Berghoff AS, Stefanits H, Woehrer A, Heinzl H, Preusser M, Hainfellner JA; Vienna Comprehensive Cancer Center Central Nervous System Unit. Clinical neuropathology practice guide 3-2013: levels of evidence and clinical utility of prognostic and predictive candidate brain tumor biomarkers. *Clin Neuropathol*. 2013 May-Jun;32(3):148-58.
17. Louis DN1, Perry A, Burger P, Ellison DW, Reifenberger G, von Deimling A, International Society Of Neuropathology--Haarlem consensus guidelines for nervous system tumor classification and grading. *Brain Pathol*. 2014 Sep;24(5):429-35.

18. Schindler G, Capper D, Meyer J, Janzarik W, Omran H, Herold-Mende C, Schmieder K, Wesseling P, Mawrin C, Hasselblatt M, Louis DN, Korshunov A, Pfister S, Hartmann C, Paulus W, Reifenberger G, von Deimling A. Analysis of BRAF V600E mutation in 1,320 nervous system tumors reveals high mutation frequencies in pleomorphic xanthoastrocytoma, ganglioglioma and extra-cerebellar pilocytic astrocytoma. *Acta Neuropathol.* 2011 Mar;121(3):397-405
19. Reuss DE, Sahm F, Schrimpf D, Wiestler B, Capper D, Koelsche C, Schweizer L, Korshunov A, Jones DT, Hovestadt V, Mittelbronn M, Schittenhelm J, Herold-Mende C, Unterberg A, Platten M, Weller M, Wick W, Pfister SM, von Deimling A. ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an "integrated" diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. *Acta Neuropathol.* 2015 Jan;129(1):133-46.
20. Camelo-Piragua S, Jansen M, Ganguly A, Kim JC, Cospér AK, Dias-Santagata D, Nutt CL, Iafrate AJ, Louis DN. A sensitive and specific diagnostic panel to distinguish diffuse astrocytoma from astrocytosis: chromosome 7 gain with mutant isocitrate dehydrogenase 1 and p53. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2011 Feb;70(2):110-5.
21. Anderson MD, Abel TW, Moots PL. Re-evaluation of nondiagnostic biopsies of suspected low-grade glioma using isocitrate dehydrogenase 1 mutation immunohistochemistry. *Neuro Oncol.* 2013 Jul;15(7):811-3.
22. Dufour C, Beaugrand A, Le Deley MC, Bourdeaut F, André N, Leblond P, Bertozzi AI, Frappaz D, Rialland X, Fouyssac F, Edan C, Grill J, Quidot M, Varlet P. Clinicopathologic prognostic factors in childhood atypical teratoid and rhabdoid tumor of the central nervous system: a multicenter study. *Cancer.* 2012 Aug 1;118(15):3812-21.
23. Horbinski C, Hamilton RL. Application of telepathology for neuropathologic intraoperative consultations. *Brain Pathol.* 2009 Apr;19(2):317-22.

Guía práctica para el diagnóstico de las Enfermedades Neurodegenerativas.

Alberto Rábano.

Departamento de Neuropatología y Banco de Tejidos. Fundación CIEN, Madrid

I. EL DIAGNÓSTICO PATOLÓGICO DE LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS EN SU CONTEXTO.

En la gran mayoría de los casos, y cuando no se trata de enfermedades genéticas, el diagnóstico de las enfermedades neurodegenerativas (END) se confirma mediante estudio post mortem. En consecuencia, en el conjunto de los criterios clínicos de diagnóstico establecidos para diversas END, como p.ej., la enfermedad de Alzheimer (EA) o la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (ECJe), el diagnóstico post mortem representa el diagnóstico “definitivo” de la enfermedad. En el caso de las END genéticas, como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la esclerosis lateral amiotrófica familiar, el estudio post mortem permite conocer el fenotipo patológico y molecular de la enfermedad, o, como en la enfermedad de Huntington, su fase evolutiva. Si no se ha realizado previamente el diagnóstico genético, puede obtenerse DNA a partir de tejido cerebral post mortem para secuenciación. También es posible sugerir o confirmar el diagnóstico de algunas END mediante biopsia cerebral, si bien su uso diagnóstico se limita a aquellos casos en los que esté indicado descartar enfermedades potencialmente tratables (p.ej., infecciosas, inflamatorias o neoplásicas) (1,2).

Desde hace ya varias décadas, el estudio post mortem de las END, el establecimiento de criterios de diagnóstico neuropatológico y la descripción de nuevas entidades, están ligados a los bancos de tejidos neurológicos. Estas unidades, por lo general vinculadas al Servicio de Anatomía Patológica de un hospital (a través de su biobanco) o a una institución académica o de investigación, se ocupan de la logística de la autopsia rápida en pacientes y sujetos donantes de tejido cerebral, y de la conservación del tejido para investigación y diagnóstico neuropatológico. Por lo general, inmediatamente tras la extracción, el cerebro se divide en dos mitades simétricas, una de las cuales se congela inmediatamente en bloques o lonchas protocolizadas, mientras que la mitad contralateral se fija en formaldehído taponado al 4% (durante al menos 3 semanas) para su posterior estudio neuropatológico. Las recomendaciones y los protocolos recogidos en esta Guía se refieren al estudio y evaluación neuropatológica de este hemisferio fijado. En nuestro país, desde enero de 2014 los biobancos de muestras neurológicas se encuentran incorporados a la Plataforma Red Nacional de Biobancos promovida por el Instituto de Salud Carlos III (3).

II. EL PARADIGMA PATOGENÉTICO ACTUAL: PROTEINOPATÍAS Y PROPAGACIÓN.

Todas las END se caracterizan por la presencia de agregados de uno o varios tipos de proteínas nativas modificadas (patológicas) que forman depósitos intracelulares (inclusiones) o extracelulares en el tejido cerebral. Las inclusiones pueden afectar a determinadas poblaciones neuronales o gliales. Las END genéticas se deben a mutaciones patogénicas en los genes que codifican estas proteínas o complejos de proteínas que participan en su procesamiento o degradación celular (*APP, PS1, PS2, MAPT, SNCA, PRNP, TARDP, PGRN, HTT*, etc.). En diversas END, tanto esporádicas como genéticas (p. ej., Alzheimer, Parkinson y Huntington), los estudios de series de casos post mortem han puesto de manifiesto la existencia de fases sucesivas de progresión (estadios) de acuerdo con patrones regulares de extensión de la patología. La evidencia experimental más reciente sugiere que en la mayoría de las END se produce una propagación efectiva de las diferentes proteínas patológicas a lo largo de circuitos neuronales vulnerables, de un modo similar al que hasta hace pocos años se consideraba exclusivo de las enfermedades priónicas (4).

III. ENFERMEDADES Y PATOLOGÍAS, HALLAZGOS Y CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO.

Con frecuencia, las END más prevalentes aparecen combinadas en estudios post mortem, y no es posible diferenciar el correlato clínico de cada una de las enfermedades observadas. También es frecuente encontrar estas patologías de forma aislada en el estudio post mortem de sujetos sin enfermedad clínica, lo que se interpreta como evidencia de que la mayoría de las END presentan fases subclínicas prolongadas (5,6). Se ha ido imponiendo en los últimos años, por ello, la descripción de cada conjunto de hallazgos característico de una enfermedad en términos de "patología" (de tipo Alzheimer, de tipo Lewy, etc.), independientemente de su expresión clínica (7). Por otra parte, la validez externa del diagnóstico y la clasificación de los casos, especialmente cuando se trata de comparar los resultados de diferentes centros, depende de la aplicación de criterios neuropatológicos de consenso. Para cada patología, estos criterios definen una selección de hallazgos significativos y unas normas para su obtención y aplicación.

IV. LA OMNIPRESENCIA DE LA PATOLOGÍA VASCULAR.

Las END se desarrollan, por lo general, en las fases medias o avanzadas de la vida, de modo que, p. ej., para la enfermedad de Alzheimer, el principal factor de riesgo conocido es la edad. La enfermedad cerebrovascular (también "patología vascular cerebral"), de base etiológica igualmente diversa, muestra un rango de edad de desarrollo y presentación similar. La patología vascular cerebral, dependiendo de su origen, puede ser focal, multifocal o difusa, y aparece con frecuencia asociada a las END. En algunos casos, como en el de la angiopatía amiloide, presenta una patogenia común con una patología END (de tipo Alzheimer), mientras que en otros (ateroesclerosis, esclerosis hialina), comparte sus principales factores de riesgo, genéticos y ambientales, con diversas END (8). Así, pues, la evaluación diagnóstica de un cerebro post mortem debe incluir en todos los casos un estudio detallado y sistemático de todos los tipos de patología vascular.

La evaluación de la patología vascular cerebral no ha alcanzado todavía un grado de sistematización y de consenso comparable al de las END. Sin embargo, sí existe, por lo general, consenso en evaluar por separado, de modo semicuantitativo (de 0 a 3 grados de intensidad), 1) la patología vascular superficial, y especialmente el polígono de Willis, 2) la patología macroscópica focal, y 3) la patología de pequeño vaso. Es probable que en el futuro se vayan perfeccionando e incorporando a la práctica diagnóstica algunos sistemas de evaluación cuantitativos desarrollados en los últimos años (9).

V. PLANTEAMIENTO GLOBAL DEL DIAGNÓSTICO NEUROPATOLÓGICO.

El diagnóstico de las END en material post mortem está dirigido a 1) determinar la patología neurodegenerativa predominante (primer diagnóstico), 2) el subtipo al que corresponde, y 3) la fase o el estadio

de progresión de la patología; 4) identificar todas las patologías neurodegenerativas combinadas, con su subtipo y estadio, cuando proceda, 5) incluyendo la patología vascular cerebral.

Para ello, se dispone de criterios operativos de diagnóstico referidos al tipo de patología (y enfermedad), al subtipo y al estadio de progresión (en aquellas patologías en las que se han identificado estadios claros).

Puede ser útil, para abordar los diferentes hallazgos y criterios diagnósticos a los que se hará referencia en los siguientes apartados, considerar un espacio teórico tridimensional definido por tres ejes de coordenadas, en los que se sitúan hallazgos patológicos significativos que pueden ser 1) macroscópicos o microscópicos, 2) positivos o negativos, y 3) específicos o inespecíficos. Así, p. ej., un patrón de atrofia frontotemporal sería un hallazgo a) macroscópico, b) negativo y c) (relativamente) inespecífico, mientras que la presencia de placas neuríticas en una región cortical cerebral determinada sería un hallazgo a) microscópico, b) positivo, y c) relativamente (específico). Conviene recordar que los criterios de diagnóstico definitivo se obtienen a partir de hallazgos preferentemente a) microscópicos, b) positivos y c) específicos.

VI. MACROSCOPÍA, TALLADO Y PROTOCOLOS DE TINCIÓN.

El estudio macroscópico del hemiencéfalo fijado en formol incluye el examen de la superficie (meninges, vasos, áreas de atrofia cortical o subcortical, lesiones focales) y de los cortes seriados del hemisferio cerebral (plano coronal), el hemisferio cerebeloso (plano sagital) y el tronco cerebral (plano transversal al eje de Meynert). En las superficies de corte se evalúa la presencia de signos de atrofia cortical y subcortical, global o regional, incluyendo la dilatación ventricular *ex vacuo*, y la presencia de lesiones focales.

El tallado y la toma de bloques para estudio en parafina debe incluir al menos todas las regiones cerebrales a las que se refieren los criterios diagnósticos de las patologías más frecuentes (p. ej., Alzheimer, Lewy, vascular), y debe permitir, asimismo, el diagnóstico de patologías menos frecuentes o inesperadas (p. ej., taupatías, atrofia multisistémica, ataxias). En los biobancos suele ampliarse la toma de muestras con vistas a disponer de material procedente de áreas demandadas por los investigadores.

El examen histológico de rutina se realiza mediante tinción de hematoxilina-eosina (H/E) en todas las áreas, y se debe realizar un número limitado de tinciones especiales y de inmunohistoquímica para detectar las lesiones características de las distintas patologías (10).

VII. LA PATOLOGÍA DE TIPO ALZHEIMER.

El sistema actual de evaluación, propuesto por el *National Institute on Aging – Alzheimer's Association* (NIA-AA)(10), incorpora procedimientos de sistemas previos (11), y al igual que algunos sistemas anteriores, establece como resultado la probabilidad de que la patología observada explique el deterioro cognitivo del paciente. El sistema sigue estando basado en la semicuantificación y el estadiaje¹ de los dos tipos de patología característicos de la enfermedad de Alzheimer: la patología β -amiloide (depósitos extracelulares de β -amiloide) y la patología neurofibrilar (depósitos intracelulares de proteína tau hiperfosforilada, o fosfo-tau). Sin embargo, se añaden las siguientes consideraciones: 1) se reconoce que los cambios neuropatológicos de la EA pueden darse en ausencia de trastorno cognitivo, y se recomienda emplear para ello una denominación que no implique la presencia de enfermedad clínica²; 2) se recomienda el uso de una puntuación "ABC" para la evaluación de los cambios neuropatológicos de EA, que incorpora la eva-

1 A diferencia de "estadificación", "estadiaje" no es un término aceptado actualmente por la RAE. No obstante, se recomienda aquí su uso porque, a diferencia de lo que ocurre en patología oncológica, donde ambos términos tienen una presencia equivalente, "estadiaje" es el término más utilizado en castellano en patología neurodegenerativa. Ambos sufijos ("-ción" y "-aje") son frecuentes en castellano en nombres de acción y efecto, y en algunos casos son equivalentes para un mismo verbo de origen (p. ej., de "peritar", "peritación" y "peritaje").

2 En la presentación original del sistema de evaluación (10) se recomienda el uso de la denominación "cambio neuropatológico de EA". Siguiendo una línea paralela de desarrollo (7), se ha optado aquí por la denominación "patología de tipo EA" para estos cambios, en concordancia con la terminología utilizada en otras END.

luación histológica de los depósitos de beta-amiloide (A), el estadiaje de los ovillos neurofibrilares (B), y la puntuación de placas neuríticas (C); y 3) se recomienda una evaluación más detallada de otras patologías asociadas, como la patología de tipo Lewy, la patología vascular, la esclerosis del hipocampo, y las inclusiones inmunorreactivas para TDP-43.

Así, pues, a cada caso evaluado se le asignará una puntuación "A", de 0 a 3, como resultado de la adaptación de un sistema previo de estadiaje de la patología β -amiloide global (12); una puntuación "B", de 0 a 3, que resulta de la reducción del sistema previo de estadiaje de la patología neurofibrilar propuesto por H. Braak (13); y una puntuación "C", igualmente de 0 a 3, que corresponde, sin modificación, al sistema previo de semicuantificación de las placas neuríticas en isocórtex asociativo (14). La puntuación final de un caso puede ser, p. ej., A2 B2 C3. A cada combinación de puntuaciones le corresponde una probabilidad de que la patología explique el deterioro cognitivo: ninguna, baja, intermedia o alta. La probabilidad alta corresponde exclusivamente a los casos con puntuación B3, esto es, con estadio V o VI de Braak.

Para el establecimiento de la puntuación "A", se realiza inmunotinción para beta-amiloide en las áreas recomendadas por el *BrainNet Europe Consortium* (15). La puntuación "B" se obtiene del estadiaje de Braak aplicado a tejido incluido en parafina, mediante inmunotinción para fosfo-tau en bloques del lóbulo temporal medial y de isocórtex (13). La puntuación "C" se obtiene mediante la evaluación previamente propuesta por CERAD en tres áreas isocorticales (14). Son válidas para ello todas las técnicas que permitan identificar las placas neuríticas, si bien lo más sencillo es incluir estas áreas en las inmunotinciones para β -amiloide y fosfo-tau.

También es importante evaluar la presencia, el tipo y la intensidad de la angiopatía amiloide cerebral (16). El tipo 1 se diferencia del tipo 2 por la extensa afectación de los capilares intracorticales.

Se han propuesto sistemas de diagnóstico y clasificación para la frecuente presencia de patología de tipo Alzheimer en sujetos sin trastorno cognitivo (17), y para la presencia de patología neurofibrilar de tipo Alzheimer en ausencia de patología β -amiloide significativa (18).

VIII. LA PATOLOGÍA DE TIPO LEWY.

Los cuerpos y las neuritas de Lewy constituyen el sustrato patológico característico de la enfermedad de Parkinson y la Demencia con cuerpos de Lewy (o Enfermedad difusa con cuerpos de Lewy). En los grupos de sujetos de edad avanzada, esta patología, al igual que la de tipo Alzheimer, aparece con frecuencia combinada con otros tipos de patología ND o con patología vascular. También es frecuente en casos de EA familiar.

Se detecta mediante inmunotinción para α -sinucleína, el principal componente de las inclusiones, que también puede poner de manifiesto tinción citoplásmica difusa en las neuronas e inclusiones astrocitarias. Los cuerpos de Lewy pueden observarse asimismo con H/E, tanto a nivel subcortical como cortical, y a este último nivel se asocian con frecuencia a un patrón característico de espongirosis neuropílica de vacuola mediana. Las regiones cerebrales estudiadas siguen el patrón regular de extensión de la patología, tal como fue definido por H. Braak (19) (estadios de α -sinucleína, de 1 a 6) (bulbo raquídeo, protuberancia, mesencéfalo, n. basalis de Meynert, amígdala, hipocampo, neocórtex), que es paralelo a los subtipos de Enfermedad difusa con cuerpos de Lewy (20): a) predominio en tronco cerebral, b) límbico (transicional), y c) neocortical (difuso). A estos subtipos se ha añadido el de "predominio en la amígdala", que no se ajusta al patrón clásico de extensión de la sinucleinopatía, y se da preferentemente asociado a casos de EA de evolución prolongada. Para diferenciar entre sí los estadios más avanzados de Braak (de α -sinucleína), sobre la base de la intensidad de la patología cortical, se estudia el córtex cingular anterior y las áreas asociativas (frontal, temporal y parietal) seleccionadas para evaluar la patología de tipo Alzheimer. En el diagnóstico y la clasificación de los casos puede informarse del subtipo de la patología y del estadio de Braak (de α -sinucleína) correspondiente.

Se han descrito mutaciones en varios genes asociadas a parkinsonismo, y sólo algunas de ellas dan lugar a cuerpos de Lewy (*SNCA*).

IX. LAS TAUPATÍAS.

Aunque, como se ha visto, una parte sustancial de la patología de tipo Alzheimer tiene como sustrato molecular la proteína tau, y puede considerarse por ello una taupatía, el grupo de las taupatías está constituido por enfermedades (o patologías) en las que la tau es la única proteína o la molécula principalmente implicada en las inclusiones patológicas. La pequeña proporción de enfermedades genéticas incluidas en este grupo se asocia a mutaciones patogénicas en el gen de la proteína tau (*MAPT*). En las taupatías esporádicas, la expresión diferencial de las isoformas de tau contribuye a una clasificación genérica de las entidades. En el cerebro adulto, la proteína tau se expresa en 6 isoformas, de las cuales tres contienen 3 copias del exón 10 (isoformas 3R), y las tres restantes contienen 4 copias (isoformas 4R). Mientras que en el cerebro adulto normal las isoformas 3R y 4R se encuentran cuantitativamente equilibradas, en diferentes taupatías predominan unas u otras o, con menor frecuencia, se mantiene el equilibrio (taupatías 3R, taupatías 4R, y taupatías 3R/4R) (21). En todas las entidades el diagnóstico se realiza mediante inmunotinción para fosfo-tau, y en algunos casos pueden ser de ayuda los anticuerpos específicos para isoformas 3R o 4R.

La enfermedad de Pick es la única taupatía esporádica 3R conocida, y tanto clínica como macroscópicamente se presenta como una demencia frontotemporal típica. Se caracteriza histológicamente por la presencia de abundantes cuerpos de Pick, inclusiones tau (+) de conformación redondeada, en neuronas isocorticales y de estructuras del lóbulo temporal medial.

Las taupatías esporádicas 4R son las más frecuentes. En todas ellas pueden observarse neuronas balonizadas en áreas límbica y extralímbicas mediante H/E. La parálisis supranuclear progresiva (PSP) se caracteriza por la presencia de abundantes ovillos neurofibrilares globoides e inclusiones astrocitarias en los ganglios basales (especialmente el globo pálido interno, y el n. subtalámico) y en el tronco cerebral, con variable afectación cortical. Las inclusiones astrocitarias tau (+) características (si bien no exclusivas) de la PSP son los "coiled bodies" (oligodendrogliales) y los astrocitos en penacho. La degeneración córticobasal (DCB), rara como entidad pura y con frecuencia combinada con PSP, se caracteriza histológicamente por la presencia de preovillos (neuronas con inmunorreactividad difusa para fosfo-tau), ovillos e inclusiones astrocitarias características (placas astrocitarias). La enfermedad de granos argirófilos (EGA) se presenta principalmente en grupos de edad avanzada y en combinación con otras patologías, y predominantemente con otras taupatías. Las lesiones características, presentes en áreas límbicas, son abundantes inclusiones granulares tau (+) de pequeño tamaño asociadas a preovillos, y a *coiled bodies*. Un patrón similar de presentación se observa en la taupatía con inclusiones gliales globulares (IGG), en la que se observan inclusiones oligodendrogliales tau (+) de conformación globular, triangular o irregular, e inclusiones astrocitarias *bush-like*.

Las taupatías 3R/4R, además de la taupatía de tipo Alzheimer, incluyen formas de DLFT genéticas por mutaciones en *MAPT*.

De acuerdo con criterios de consenso el grupo de las DFT comprende todas las taupatías anteriores (40% de todas las DFT), si bien sólo algunas de ellas (como p. ej., la enfermedad de Pick o algunas DFT asociadas a mutaciones en *MAPT*) podrían describirse morfológicamente como degeneraciones lobares frontotemporales (DLFT), el correlato estricto de las DFT como entidades clínicas. El marco actual de las DFT se completa con las entidades incluidas en el siguiente apartado, todas ellas clasificables, desde el punto de vista del diagnóstico neuropatológico, como DLFT (22).

X. LAS DEMENCIAS FRONTOTEMORALES (EXCLUYENDO LAS TAUPATÍAS).

Este grupo de entidades se ha ido expandiendo y clarificando a lo largo de la última década, fundamentalmente gracias al esclarecimiento de la composición molecular de sus inclusiones características y a la identificación de mutaciones en casos familiares (*GRN*, *TARBP*, *C9orf72*, *VCP*, *FUS* y *CHMP2B*). Si bien hace pocos años el principal grupo de DFT se definía por la presencia de inclusiones tau(-)/ubiquitina(+), hoy sabemos que la mayoría de estos casos (50% del total de DFT) contienen inclusiones inmunorreactivas para la *transactive response DNA-binding protein* (TDP-43), que en una pequeña proporción las inclusiones son positivas para la proteína *fused in sarcoma* (FUS), y que en algunos casos muy infrecuentes sólo se observa

reactividad para proteínas del sistema ubiquitina-proteasoma, tanto esporádicos (DLFT-SUP) como genéticos (mutaciones en *CHMP2B*) (22).

En conjunto, estos casos muestran un patrón variable de atrofia frontal y temporal anterior, con frecuencia asimétrico, y de afectación subcortical (caudado-putamen, s. nigra).

El grupo de las DLFT-TDP se caracteriza histológicamente por la presencia de abundantes inclusiones neuronales y gliales citoplásmicas TDP-43(+) en isocórtex, estriado e hipocampo. En función de la localización intracortical de las inclusiones, de la presencia de inclusiones intranucleares neuronales y de las características de las neuritas inmunorreactivas, se han establecido 4 tipos de patrón (A, B, C y D), uno de los cuales, el más frecuente (C), corresponde a los casos esporádicos. La mayoría de los casos genéticos son atribuibles a mutaciones en *GRN* (DLFT-TDP de tipo A) o en *C9orf72* (DLFT-TDP de tipo B).

El grupo de las DLFT-FUS presenta inclusiones FUS(+), que en algunos casos se pueden identificar como inclusiones basófilas mediante H/E (BIBD), mientras que en otros corresponden a inclusiones de neurofilamentos (NIFID) o a inclusiones solo inmunorreactivas para FUS. Excepcionalmente, se trata de casos genéticos por mutaciones en el gen *FUS*.

La patología TDP-43 aparece con frecuencia asociada a esclerosis del hipocampo (EsH) (23) y a patología de tipo Alzheimer, con o sin EsH, y al igual que otras patologías combinadas (vascular, Lewy, granos argirófilos) tiene un impacto significativo sobre el perfil cognitivo y clínico de los pacientes (24).

XI. ENFERMEDAD DE LA NEURONA MOTORA.

El trastorno neurodegenerativo por excelencia es la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), una enfermedad en la que la pérdida neuronal y la astrogliosis asociada tiene lugar principalmente en los grupos de motoneuronas del asta anterior medular, en algunos núcleos motores somáticos del tronco cerebral (segunda motoneurona), y, en grado variable, en el córtex motor primario (primera motoneurona). En la ELA clásica, con afectación de primera y segunda motoneuronas, pueden estar afectados otros sistemas no motores (p. ej, s. nigra, n. rojo). La afectación predominante de los núcleos del tronco se asocia a parálisis bulbar progresiva, que puede evolucionar posteriormente a otras formas de ELA. En algunos casos la patología está limitada a la motoneurona cortical y el tracto corticoespinal (esclerosis lateral primaria). Finalmente, si son las motoneuronas medulares las únicas afectadas, se trata de una atrofia muscular progresiva. En algunos casos la ELA clásica se asocia a DLFT (DLFT-ELA). El diagnóstico neurológico, basado en criterios clínicos y electromiográficos, se confirma neuropatológicamente en la práctica totalidad de los casos.

Si bien en la mayoría de los casos no resulta imprescindible estudiar la médula espinal para hacer el diagnóstico, es recomendable incluir su extracción en la autopsia para una mejor correlación clínico-patológica y con el fin de disponer de tejido medular para investigación. Si se realiza una autopsia neuropatológica limitada a la cavidad craneal, puede extraerse la médula a través de un abordaje posterior. Es recomendable tomar muestras de músculo esquelético y nervio periférico. El examen macroscópico revela un grado variable de atrofia del córtex prerrolándico, de las raíces anteriores de los cordones medulares y de los cordones laterales medulares ("esclerosis lateral").

Mediante H/E se observa intensa astrogliosis en las áreas afectadas, esferoides axonales, e inclusiones neuronales (cuerpos de Bunina, inclusiones hialinas y cuerpos Lewy-like). En los casos esporádicos se observan inclusiones neuronales y gliales inmunorreactivas para ubiquitina, p62 y TDP-43 superponibles a las detectadas en la DLFT-TDP. En los casos familiares (5-10%) pueden no observarse inclusiones (mutaciones en *SOD1*) o pueden identificarse inclusiones inmunorreactivas para FUS (mutaciones en *FUS*). Las mutaciones en otros genes (*TARDBP*, *OPN*, *UQLN2*, *C9ORF72*) sí dan lugar a inclusiones TDP-43 (+) (25).

XII. TRASTORNOS DEL MOVIMIENTO NEURODEGENERATIVOS MENOS FRECUENTES.

La atrofia multisistémica (AMS) es una sinucleinopatía poco frecuente (4,4 por 100.000) en la que no se forman cuerpos de Lewy, y que presenta inclusiones citoplásmicas gliales (ICG) inmunorreactivas para

alfa-sinucleína. Se puede presentar, de forma pura o combinada, como a) atrofia olivopontocerebelosa (AOPC), por lo que también se incluye en el grupo de las ataxias esporádicas, b) síndrome de Shy-Drager, o c) degeneración estriatonigra (DEN). Desde el punto de vista clínico se clasifica como AMS-P (con parkinsonismo predominante) o AMS-C (con ataxia cerebelosa predominante). Las regiones cerebrales principalmente afectadas son el cerebelo, los pedúnculos cerebelosos medios y la base protuberancial (AOPC); la s. nigra y el putamen (DEN); el l. coeruleus y la columna intermediolateral de la médula espinal (s. de Shy-Drager). El diagnóstico histológico se basa en la identificación de las ICG características y de inclusiones neuronales citoplásmicas mediante inmunotinción para alfa-sinucleína. Las ICG pueden observarse igualmente con Gallyas. En el diagnóstico neuropatológico se puede incluir el estadiaje de la DEN (I-III) y de la AOPC (I-III) (26).

La Enfermedad de Huntington (EH) es una END de origen genético, con herencia autosómica dominante, debida al aumento de repeticiones del triplete CAG en el gen *HTT*, lo que da lugar a una elongación del segmento de poliglutamina en la proteína que codifica, la huntingtina. Se presenta con corea, rigidez y trastorno cognitivo, y las regiones principalmente afectadas son el caudado-putamen y el globo pálido. Los grados de Vonsattel (0-4) reflejan la atrofia progresiva de estos núcleos. Mediante inmunotinción para ubiquitina y huntingtina se ponen de manifiesto inclusiones neuronales citoplásmicas y nucleares en áreas afectadas y preservadas.

XIII. ATAXIAS HEREDITARIAS Y ESPORÁDICAS.

Las ataxias degenerativas resultan de diversos patrones inespecíficos de afectación, que pueden aparecer en combinación: a) degeneración cerebelosa cortical, b) degeneración cerebelo olivar, c) degeneración olivopontocerebelosa, y d) degeneración espinocerebelosa, entre otras.

La ataxia de Friedreich es la ataxia hereditaria más frecuente con herencia autosómica recesiva, y resulta de una mutación en el gen *FRDA*, que codifica la frataxina. Se observan cambios histológicos en diversos tejidos extraneurales, incluido el tejido linfóide, así como degeneración cerebelosa cortical, atrofia de las columnas posteriores medulares, pérdida de células satélites en los ganglios raquídeos, y pérdida neuronal en el asta anterior medular. En la s. nigra se pueden observar inclusiones *Lewy-like*.

Las ataxias cerebelosas autosómicas dominantes constituyen un extenso grupo genéticamente heterogéneo (SCA 1 – 37), que muestra diversos patrones de atrofia y otros hallazgos asociados. Algunas de ellas son enfermedades por poliglutamina (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 y SCA17), y pueden mostrar inclusiones intranucleares ubiquitina (+) y p62 (+) en las áreas afectadas. En SCA1 estas inclusiones son inmunorreactivas para ataxina-1 (SCA1), SCA 11 se asocia a degeneración neurofibrilar y SCA20 muestra mineralización del n. dentado (27).

Entre las ataxias esporádicas destacan la AMS, ya comentada, y la ataxia esporádica de etiología desconocida del adulto (AEOD), que es un diagnóstico neuropatológico de exclusión.

XIV. LAS ENFERMEDADES HUMANAS POR PRIONES.

Las enfermedades priónicas humanas constituyen un grupo singular de END. Además de incluir entidades mayoritariamente esporádicas (90%) y genéticas, como otras END, incluyen enfermedades adquiridas por transmisión zoonótica o iatrogénica. En la mayoría de los casos producen cuadros neurológicos complejos (ataxia, demencia, piramidalismo, parkinsonismo, mioclonias, etc.) de evolución rápidamente progresiva, con intensa afectación de múltiples regiones cerebrales, corticales y subcorticales. Histológicamente, se caracterizan por la presencia de intensa espongirosis neuropílica, pérdida neuronal y gliosis. Mediante inmunotinción para la proteína priónica (PrP) se observan extensos depósitos extracelulares, con rasgos característicos para cada entidad y subtipo. El gen de la PrP celular, *PRNP*, contiene un polimorfismo en el codón 129 (Met/Val) que determina el riesgo de desarrollar la enfermedad, el periodo de incubación y el fenotipo clínico-patológico y molecular (28).

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (ECJe) se subclasifica de acuerdo con el status del codón 129 del paciente (M/M, M/V, V/V) y el tipo molecular de PrP patológica presente en tejido cerebral (tipo 1 o tipo 2A). Las enfermedades genéticas del grupo corresponden a la ECJ familiar y a la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (SGSS) y al Insomnio Familiar Letal (IFL), debidas a mutaciones en *PRNP*. Las enfermedades adquiridas son el kuru (en Papúa-Nueva Guinea, ya erradicada), la ECJ iatrogénica y la variante de ECJ (transmitida a partir de la encefalopatía espongiforme bovina).

La epidemia de variante de ECJ de los últimos años en varios países europeos, incluido el nuestro, ha dado lugar a un sistema de vigilancia epidemiológica de la enfermedad, que establece centros de referencia para la realización de las autopsias y para el procesamiento de las muestras. Ambos procesos requieren medidas especiales de bioseguridad y deben ser realizadas por personal experto y con los medios adecuados (29).

BIBLIOGRAFÍA

1. Warren JD, Schott JM, Fox NC, Thom M, Revesz T, Holton JL, Scaravilli F, Thomas DG, Plant GT, Rudge P, Rossor MN. Brain biopsy in dementia. *Brain*. 2005 Sep;128(Pt 9):2016-25.
2. Schott JM, Reiniger L, Thom M, Holton JL, Grieve J, Brandner S, Warren JD, Revesz T. Brain biopsy in dementia: clinical indications and diagnostic approach. *Acta Neuropathol*. 2010 Sep;120(3):327-41.
3. <http://www.redbiobancos.es/Default.aspx?i=10>
4. Jucker M, Walker LC. Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature*. 2013 Sep 5;501(7465):45-51.
5. Sonnen JA, Santa Cruz K, Hemmy LS, Woltjer R, Leverenz JB, Montine KS, Jack CR, Kaye J, Lim K, Larson EB, White L, Montine TJ. Ecology of the aging human brain. *Arch Neurol*. 2011 Aug;68(8):1049-56.
6. Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 2009 Aug;66(2):200-8.
7. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Delacourte A, Frisoni G, Fox NC, Galasko D, Gauthier S, Hampel H, Jicha GA, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Sarazin M, de Souza LC, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol*. 2010 Nov;9(11):1118-27.
8. Kling MA, Trojanowski JQ, Wolk DA, Lee VM, Arnold SE. Vascular disease and dementias: paradigm shifts to drive research in new directions. *Alzheimers Dement*. 2013 Jan;9(1):76-92.
9. Jellinger KA. Front Aging Neurosci. Pathology and pathogenesis of vascular cognitive impairment-a critical update. 2013 Apr 10;5:17.
10. Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Trojanowski JQ, Vinters HV, Hyman BT; National Institute on Aging; Alzheimer's Association. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach. *Acta Neuropathol*. 2012 Jan;123(1):1-11.
11. Hyman BT, Trojanowski JQ. Editorial on recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer Disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute WorkingGroup on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer Disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56: 1095-7.

12. Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*. 2002 Jun 25;58(12):1791-800.
13. Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Del Tredici K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol*. 2006 Oct;112(4):389-404.
14. Mirra SS, Heyman A, McKeel D, Sumi SM, Crain BJ, Brownlee LM, Vogel FS, Hughes JP, van Belle G, Berg L et al. The Consortium to Establish a registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 1991; 41: 479-86.
15. Alafuzoff I, Thal DR, Arzberger T, Bogdanovic N, Al-Sarraj S, Bodi I, Boluda S, Bugiani O, Duyckaerts C, Gelpi E, Gentleman S, Giaccone G, Graeber M, Hortobagyi T, Höftberger R, Ince P, Ironside JW, Kavantzias N, King A, Korkolopoulou P, Kovács GG, Meyronet D, Monoranu C, Nilsson T, Parchi P, Patsouris E, Pikkarainen M, Revesz T, Rozemuller A, Seilhean D, Schulz-Schaeffer W, Streichenberger N, Wharton SB, Kretschmar H. Assessment of beta-amyloid deposits in human brain: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Acta Neuropathol*. 2009 Mar;117(3):309-20.
16. Thal DR, Ghebremedhin E, Rüb U, Yamaguchi H, Del Tredici K, Braak H. Two types of sporadic cerebral amyloid angiopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2002 Mar;61(3):282-93.
17. Jicha GA, Abner EL, Schmitt FA, Kryscio RJ, Riley KP, Cooper GE, Stiles N, Mendiondo MS, Smith CD, Van Eldik LJ, Nelson PT. Preclinical AD Workgroup staging: pathological correlates and potential challenges. *Neurobiol Aging*. 2012 Mar;33(3):622.e1-622.e16.
18. Crary JF, Trojanowski JQ, Schneider JA, Abisambra JF, Abner EL, Alafuzoff I, Arnold SE, Attems J, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, Gearing M, Grinberg LT, Hof PR, Hyman BT, Jellinger K, Jicha GA, Kovacs GG, Knopman DS, Kofler J, Kukull WA, Mackenzie IR, Masliah E, McKee A, Montine TJ, Murray ME, Neltner JH, Santa-Maria I, Seeley WW, Serrano-Pozo A, Shelanski ML, Stein T, Takao M, Thal DR, Toledo JB, Troncoso JC, Vonsattel JP, White CL 3rd, Wisniewski T, Woltjer RL, Yamada M, Nelson PT. Primary age-related tauopathy (PART): a common pathology associated with human aging. *Acta Neuropathol*. 2014 Dec;128(6):755-66.
19. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 2003 : 197-211.
20. Alafuzoff I, Ince PG, Arzberger T, Al-Sarraj S, Bell J, Bodi I, Bogdanovic N, Bugiani O, Ferrer I, Gelpi E, Gentleman S, Giaccone G, Ironside JW, Kavantzias N, King A, Korkolopoulou P, Kovács GG, Meyronet D, Monoranu C, Parchi P, Parkkinen L, Patsouris E, Roggendorf W, Rozemuller A, Stadelmann-Nessler C, Streichenberger N, Thal DR, Kretschmar H. Staging/typing of Lewy body related alpha-synuclein pathology: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Acta Neuropathol*. 2009 Jun;117(6):635-52.
21. Sergeant N, Delacourte A, Buée L. Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Jan 3;1739(2-3):179-97.
22. Josephs KA, Hodges JR, Snowden JS, Mackenzie IR, Neumann M, Mann DM, Dickson DW. Neuropathological background of phenotypical variability in frontotemporal dementia. *Acta Neuropathol*. 2011 Aug;122(2):137-53.

23. Amador-Ortiz C, Lin WL, Ahmed Z, Personett D, Davies P, Duara R, Graff-Radford NR, Hutton ML, Dickson DW. TDP-43 immunoreactivity in hippocampal sclerosis and Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2007 May;61(5):435-45.
24. Josephs KA, Whitwell JL, Knopman DS, Hu WT, Stroh DA, Baker M, Rademakers R, Boeve BF, Parisi JE, Smith GE, Ivnik RJ, Petersen RC, Jack CR Jr, Dickson DW. Abnormal TDP-43 immunoreactivity in AD modifies clinicopathologic and radiologic phenotype. *Neurology*. 2008 May 6;70(19 Pt 2):1850-7.
25. Blokhuis AM, Groen EJ, Koppers M, van den Berg LH, Pasterkamp RJ. Protein aggregation in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathol*. 2013 Jun;125(6):777-94.
26. Ozawa T, Paviour D, Quinn NP, Josephs KA, Sangha H, Kilford L, Healy DG, Wood NW, Lees AJ, Holton JL, Revesz T. The spectrum of pathological involvement of the striatonigral and olivopontocerebellar systems in multiple system atrophy: clinicopathological correlations. *Brain*. 2004 Dec;127(Pt 12):2657-71.
27. Seidel K, Siswanto S, Brunt ER, den Dunnen W, Korf HW, Rüb U. *Acta Neuropathol*. Brain pathology of spinocerebellar ataxias. 2012 Jul;124(1):1-21.
28. Puoti G, Bizzi A, Forloni G, Safar JG, Tagliavini F, Gambetti P. Sporadic human prion diseases: molecular insights and diagnosis. *Lancet Neurol*. 2012 Jul;11(7):618-28.
29. <http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/docs/GuiaECJ.pdf>

Figura 1. Distribución y características de las lesiones histológicas presentes en las principales enfermedades neurodegenerativas.

Enfermedad/ Patología	Regiones cerebrales	Depósitos/inclusiones	Proteína/Inmunohistoquímica
Alzheimer	Hipocampo, córtex nn. subcorticales	Placas neuríticas Ovillos, hebras	β -amiloide Tau 3R/4R
Lewy	Tronco cerebral Lóbulo límbico Córtex cerebral	Cuerpos de Lewy Neuritas de Lewy	α -sinucleína
PSP	Ganglios basales Tronco cerebral Córtex cerebral	Astroцитos en penacho Coiled bodies Ovillos globoides	Tau 4R
DCB	Córtex cerebral S. nigra	Placas astrocitarias Preovillos	Tau 4R
EGA	Lóbulo límbico	Granos argirófilos Preovillos Coiled bodies	Tau 4R
Taupatía con IGG	Lóbulo límbico Córtex cerebral	Inclusiones glial. globulares Astrocitos bush-like	Tau 4R
E. de Pick	Córtex frontal, temporal Hipocampo Ganglios basales	Cuerpos de Pick	Tau 3R
DLFT-tau	Córtex frontal, temporal Hipocampo Ganglios basales	Preovillos Inclusiones neuronales Inclusiones gliales	Tau 3R/4R, 3R, 4R
DLFT-TDP	Córtex frontal, temporal Hipocampo Ganglios basales	Inclusiones cit. neuronales Inclusiones intranucleares Inclusiones gliales	TDP
DLFT-FUS	Córtex frontal, temporal Hipocampo Ganglios basales	Inclusiones basófilas	FUS
ELA esporádico	Motoneurona espinal Nn. motores del tronco Córtex motor primario	Inclusiones neuronales	TDP
ELA familiar	Motoneurona espinal Nn. motores del tronco Córtex motor primario	-	TDP(+), TDP(-) Ubiquitina, p62 (+)
Atrofia multisistémica	Ganglios basales Cerebelo	Inclusiones citopl. gliales Inclusiones neuronales	α -sinucleína
E. de Huntington	Caudado-putamen Globo pálido	Inclusiones intranucleares Inclusiones citoplásmicas	Huntingtina

La Biopsia Muscular. Aspectos Prácticos.

Federico García-Bragado.

Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

I. INTRODUCCION

El campo de la miopatología ha cambiado sustancialmente en las últimas décadas. En el estudio de la patología muscular se han incorporado nuevas técnicas a las consideradas clásicas. Ya no son sólo el estudio clínico, el estudio electrofisiológico y la biopsia muscular las armas que poseemos sino que se han incorporado y con mucha fuerza la resonancia magnética y los estudios genéticos de nueva generación.

En el campo de la genética, es donde se han sucedido los avances más significativos. Desde que se descubrió y se clonó el gen de la distrofia muscular de Duchenne (DMD) en 1987 hasta ahora, varios centenares de nuevos genes y proteínas han sido identificados como causantes de enfermedades musculares. Pese a la importancia de estos avances, resta encontrar explicación a los distintos fenotipos clínicos que vemos asociados a una misma mutación, descubrir porqué unos grupos musculares se afectan y otros no y, sobre todo, desarrollar terapias basadas en la comprensión de los mecanismos genéticos de la enfermedad. Las nuevas técnicas de secuenciación masiva (*Next Generation Sequencing*), sin duda facilitarán esta tarea y veremos su implantación en tareas diagnósticas en los próximos años.

Dicho todo lo anterior, hay que resaltar que el estudio de la biopsia muscular sigue teniendo una gran importancia en muchos de los campos de la patología y que su estudio ha de ser especializado y hecho en conjunto con el resto de especialistas implicados en el diagnóstico y tratamiento de los pacientes.

II. INDICACIONES DE LA BIOPSIA MUSCULAR

La biopsia muscular es una técnica invasiva y sus indicaciones son precisas.

En general se consideran subsidiarios de una biopsia muscular aquellos pacientes a los que se les puede indicar una terapia curativa, paliativa o que puedan ser incorporados a algún tipo de ensayo clínico, pacientes en los que un diagnóstico preciso pueda facilitar un consejo genético o una información pronóstica y, por último, pacientes en los que una biopsia muscular pueda excluir la existencia de una enfermedad tratable.

En nuestra experiencia las situaciones en la que con mayor frecuencia se solicita una biopsia muscular son:

- Sospecha de miopatías inflamatorias
- Sospechas de miopatías tóxicas o medicamentosas
- Aumentos de CPK asintomáticos
- Sospechas de distrofias musculares excluyendo las que tienen un diagnóstico genético preciso (distrofia miotónica, distrofia facio escápulo humeral...)
- Niños hipotónicos desde el nacimiento o primera infancia en los que se ha descartado genéticamente una atrofia espinal
- Sospechas de miopatías metabólicas o mitocondriales.

III. TÉCNICAS DE REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA.

El tejido puede obtenerse por punción percutánea o por biopsia abierta.

La biopsia muscular por punción percutánea o con aguja tiene indiscutibles ventajas. Es un procedimiento ambulatorio y no deja cicatriz. Se trata de un método valioso para identificar procesos multifocales como vasculitis o polimiositis y en todos los casos en los que sea necesaria la toma de muestras repetidas. La desventaja es el menor tamaño de la muestra. El instrumento que se utiliza es un trocar. Se realiza una incisión pequeña en la piel de 2 a 3 mm bajo anestesia local, se introduce una aguja de 4 mm hasta alcanzar la masa muscular, se aspira y se introduce el émbolo que secciona la parte aspirada.

La biopsia abierta es el método más utilizado. Lo ideal es que sea tomada por personal capacitado e involucrado en el diagnóstico del paciente. En nuestra experiencia, las mejores biopsias son las obtenidas por neurólogos entrenados. Para obtener el tejido se hace una incisión no menor de 2 cm para obtener una muestra de tejido de aproximadamente 2 x 1.5 cm.

El músculo a biopsiar será el que las pruebas de imagen o la exploración clínica aconseje. Los músculos con afectación incipiente son poco demostrativos; por el contrario, los músculos en etapas avanzadas de enfermedad presentan extensa atrofia e infiltración grasa lo que dificulta el diagnóstico de una entidad específica. Igualmente hay que evitar que el músculo que se va a biopsiar haya sido sometido a estudios de electromiografía.

IV. MANEJO DE LA MUESTRA

El manejo de la muestra es vital para que se pueda tener una información valiosa de la biopsia muscular. La biopsia se debe recibir en el laboratorio de patología pronto y envuelta en una gasa humedecida en suero para que pueda ser congelada adecuadamente y se puedan tomar muestras para ultraestructura. Si la biopsia muscular ha de ser remitida a otro laboratorio de referencia tenemos que asegurarnos que estén preparados para recibirla y que el lapso de tiempo desde la extracción no supere en mucho las 4 horas de lo contrario debería ser congelada en origen. Una vez recibida en el laboratorio la muestra debe ser separada en los fragmentos que se van a congelar, que se van a dedicar a ultraestructura, prever si serán necesarios estudios metabólicos y, sólo en el caso que la muestra sea abundante y que la patología a estudiar lo requiera, se considerará el fijar en formol un fragmento para su posterior inclusión en parafina. El método de elección para la congelación de la muestra es sumergirla en isopentano previamente enfriado con nitrógeno líquido. Cuando no se dispone de isopentano también ofrece buenos resultados el embadurnar la muestra en polvos de talco durante varios minutos y posteriormente sumergirla en nitrógeno líquido. La muestra se ha de orientar para que los cortes en el criotomo sean transversales.

Existen multitud de páginas web donde se explica el procedimiento de congelación de la biopsia muscular: basta preguntar al navegador por "muscle biopsy freezing procedure". En esta dirección, hay una estupenda revisión de la patología muscular y de su metodología en castellano. http://www.bellvitgehospital.cat/info_corporativa/MetodosPatologiaMuscular.pdf

V. TÉCNICAS QUE SE DEBEN REALIZAR RUTINARIAMENTE EN UNA BIOPSIA MUSCULAR.

1. *La hematoxilina y eosina* es la tinción histológica rutinaria y sirve para evaluar las alteraciones de la organización celular y de la estructura del músculo.
2. La tinción *NADH* (nicotinamide adenine dinucleotide tetrazolium reductase) nos muestra la actividad de un grupo de enzimas que denominamos oxidativas y que se encuentran en las mitocondrias y en el retículo endoplásmico. Esta tinción se usa para evaluar la cantidad de mitocondrias existentes y la posible existencia de centros sin tinción (central core) y es útil en el diagnóstico de procesos denervativos.

3. Los distintos tipos de fibras se pueden evaluar mediante las tinciones de *ATPasa* a distinto pH y también utilizando los anticuerpos anti cadenas rápidas o lentas de miosina.
4. La técnica de *tricómico modificado de Gomori* es particularmente útil para evaluar las alteraciones mitocondriales, la existencia de inclusiones filamentosas, cuerpos nemalínicos y otras alteraciones de sistema miofibrilar.
5. El *PAS* nos servirá para reconocer la existencia de acúmulos de glucógeno y evaluar las estructuras vasculares. Se suelen usar técnicas de tinción de grasas para poner de manifiesto los acúmulos de lípidos que pueden apreciarse en algunas miopatías metabólicas.
6. Ante la sospecha de miopatías metabólicas, sobre todo en el contexto de una intolerancia al ejercicio, es imprescindible realizar técnicas para valorar la actividad de *miofosforilasa* y *mioadenilato deaminasa*. En el caso de sospecha de miopatías mitocondriales la tinción de coenzima C oxidasa nos facilita la observación de fibras negativas.
7. Son muchas las técnicas inmunohistoquímicas que pueden utilizarse en el músculo en los casos de sospecha de distrofias musculares. Lo más frecuente es utilizar anticuerpos anti proteínas estructurales de la fibra muscular. Pueden ser proteínas de membrana de citoplasma o nucleares.
 - a) *La distrofina* es la que más frecuentemente se testa cuando tenemos músculos en varones y queremos descartar o confirmar la existencia de una distrofinopatía, también debe realizarse ante la biopsia de una mujer en edad fértil con CK elevada para descartar un estado de portadora.
 - b) La utilización de la proteína relacionada con la distrofina (*utrofina*), los *sarcoglicanos*, la *disferlina*, la *emerina* y la *caveolina*, entre otras nos permiten poner de manifiesto alteraciones de la expresión de las mismas y orientar la realización de un estudio genético u otro.
8. Hay que considerar que en muchas ocasiones el estudio inmunohistoquímico con distintas las proteínas estructurales no ofrece resultados determinantes o, simplemente, no se puede llevar a cabo porque los Ac no funcionan con esta técnica como ocurre con la calpaína 3, causante de una de las distrofias musculares de cinturas más comunes en nuestro medio. En estos casos, hay que continuar el estudio realizando *Western Blot (WB)* en la biopsia muscular. Es importante tener en cuenta que para obtener los mejores resultados con esta técnica el fragmento congelado que vayamos a utilizar para WB debería estar libre de OCT.
9. En las miopatías inflamatorias se pueden y se deben utilizar todas las baterías de *marcadores linfocitarios* de que disponemos y además es de gran utilidad para su confirmación el antígeno mayor de histocompatibilidad clase uno (*MHC clase uno*).
10. Una pequeña porción de la muestra debe fijarse y procesarse para *estudio ultraestructural*. En general, el estudio ultraestructural no es un procedimiento rutinario y se suelen reservar para circunstancias particulares en las que contribuye definitivamente a establecer un diagnóstico específico. Debe ser el patólogo, que conociendo los datos clínicos y los hallazgos en la microscopía óptica, quien determine si está indicado el estudio ultraestructural. Las circunstancias en las que el estudio ultraestructural puede ser más útil e incluso necesario son en las miopatías metabólicas, las miopatías mitocondriales, cuando observamos algún tipo de inclusión citoplasmática o alteración del patrón miofibrilar y en las miopatías congénitas.

VI. VALORACION DE LA BIOPSIA MUSCULAR

El estudio de la biopsia muscular debe ser especializado y conjunto con el resto de especialistas implicados. No obstante, el patólogo general tiene un papel importante que llevar a cabo ante estas muestras. Es frecuente que se indique la realización de biopsias ante sospechas de PAN u otras vasculitis, amiloidosis, procesos infecciosos o infiltraciones tumorales. En estos casos el patólogo general está plenamente capacitado para efectuar un diagnóstico, pero el manejo de la muestra debe ser el que hemos comentado para que se pueda continuar el estudio en el caso de que no se confirmen las sospechas.

En la interpretación microscópica de una biopsia muscular se debe proceder como con cualquier muestra valorando, a bajo aumento, la arquitectura general de los fascículos musculares y posteriormente centrándose en la existencia de atroñas o de alteraciones estructurales de las fibras, la mayoría de las cuales son inespecíficas.

Muchos de los textos de patología general recogen, en el capítulo correspondiente, las alteraciones elementales y su interpretación. También son muchas las páginas web que indican como aproximarse al estudio de las biopsias musculares. <http://neuromuscular.wustl.edu/lab/mbiopsy.htm> <http://www.institut-myologie.org/anglais/index.php> <http://emedicine.medscape.com/article/1869808-overview#showall> <http://emedicine.medscape.com/article/1847877-overview#a03>

A continuación expondremos aquí algunos de los cambios que observamos en los principales grupos de enfermedades musculares.

1. Atroñas neurógenas:

- Fibras anguladas y atroficas
- Agrupamiento de tipos de fibras
- Fibras atroficas agrupadas
- Presencia de fibras en diana
- Acúmulos nucleares (por pérdida del sarcolema)
- Cambios pseudomiopáticos cuando la afección es crónica
- Inversión de la actividad oxidativa (las fibras atroficas son positivas con NADH aunque sean tipo 2)

2. Cambios miopáticos y distróficos:

Hay un gran espectro de alteraciones que rara vez son específicas y han de ser interpretadas en el contexto clínico. Algunas alteraciones son más propias de las miopatías que de los procesos neurógenos y son:

- Necrosis de fibras musculares (que se inicia con pérdida de tinción)
- Fagocitación por actuación de los macrófagos CD68+
- Aparición de fibras regenerativas (basófilas y con núcleo prominente)
- Fibras hipertróficas alternando con otras pequeñas y redondeadas
- Centralización nuclear
- Fibrosis e infiltración adiposa endomisial
- Alteraciones de la estructura en las tinciones oxidativas
- Alteraciones en la expresión de las proteínas involucradas en la enfermedad

También hay que considerar el tiempo de evolución de la enfermedad. La necrosis y regeneración se da en procesos agudos con marcada elevación de la CK mientras que la fibrosis y sustitución adiposa implican cronicidad.

3. Miopatías inflamatorias:

Su sospecha es una de las indicaciones más frecuentes para realizar una biopsia muscular. Bajo este término, un tanto genérico, agrupamos a los tres principales entidades: Polimiositis (PM), Dermatomiositis (DM) y Miositis con cuerpos de inclusión esporádica (IBM). Las tres tienen en común la existencia de infiltrados inflamatorios en distintos compartimentos y la sobreexpresión del anticuerpo HLA clase 1.

Hay una cuarta categoría de miopatía mediada por inmunidad que cada vez está teniendo mayor relevancia porque frecuentemente se observa en el contexto de tratamientos con **inhibidores de la HMG-CoA reductasa** (estatinas). Se denomina Miopatía necrotizante disimmune (IMNM)

Polimiositis (PM):

- Inflamación linfocitaria endomisial
- Invasión de miofibras no necróticas por linfocitos T (CD3 y CD8+)

- Expresión de HLA en la superficie de fibras musculares indemnes
- Necrosis de fibras, fagocitosis
- Fibras regenerativas

Dermatomiositis (DM):

- Inflamación linfocitaria perimisial y perivascular
- Atrofia de fibras en la periferia del fascículo
- Expresión de HLA en la superficie de fibras musculares indemnes

Miositis con cuerpos de inclusión (IBM):

- Inflamación linfocitaria endomisial
- Invasión de miofibras no necróticas por linfocitos T (CD3 y CD8+)
- Expresión de HLA en la superficie de fibras musculares indemnes
- Presencia de fibras atroficas e hipertróficas
- Vacuolas ribeteadas (muy características pero inespecíficas)
- Inclusiones eosinófilas
- Presencia de amiloide (rojo congo +) en algunas de las inclusiones

Miopatía necrotizante disimmune (IMNM):

- Necrosis parcheada de fibras musculares
- Expresión de HLA en la superficie de fibras musculares indemnes
- Ausencia de infiltrados inflamatorios

4. Miopatías metabólicas:

Este epígrafe es extensísimo pero nombraremos únicamente aquellos procesos que se biopsian con una cierta frecuencia y cuyo estudio morfológico es de utilidad.

Depósitos de glucógeno:

- Enfermedad de Pompe (glucogenosis tipo II) por déficit de maltasa ácida o alfa-glucosidasa.
 - En los niños es una clara afectación vacuolar, PAS+ con glucógeno intralisosomal cuando se estudia con ME. Precisa confirmación bioquímica.
 - En los adultos el diagnóstico clínico y morfológico es más complejo. Existe gran facilidad para llevar a cabo el test de la "gota seca" y por tanto no estamos tan implicados en su diagnóstico.
- Enfermedad de McArdle (glucogenosis V) por déficit de miofosforilasa
 - Aparecen vacuolas subsarcolemas PAS+ pero la clave diagnóstica la aporta la tinción enzimática con fosforilasa que es negativa frente a un control normal. Esta es una técnica que se ha de hacer rutinariamente ante un cuadro clínico de intolerancia al ejercicio.

5. Miopatías mitocondriales:

Su sospecha es otra causa frecuente de indicación de biopsia muscular. Esta sospecha suele aparecer ante cuadros neurológicos complejos que afectan a varios órganos y sistemas sin que necesariamente haya sintomatología muscular. Desde el punto de vista morfológico, lo más característico es:

- Fibras "rojo-rotas"
- Fibras Cox negativas
- Inclusiones paracrystalinas intramitocondriales en el estudio con ME.

6. Miopatías congénitas:

Se trata de un grupo de enfermedades, todas hereditarias, que se caracterizan por tener cambios morfológicos concretos en la biopsia. Clínicamente corresponden a niños hipotónicos desde el nacimiento o primera infancia. Las más frecuentes, pese a su rareza son:

- Miopatía nemalínica
 - Aparecen los llamados bastones de nemalina que se observan de color rojo con técnica de Gomori.
 - Suelen estar en la fibras 1 que, además, son de menor tamaño (hipotróficas)
 - En el estudio ultraestructural se aprecian como acúmulos de material correspondiente a las bandas Z del músculo.
 - Hasta el momento se conocen al menos 10 mutaciones diferentes en distintos genes (nebulina, actina, tropomiosina...) como causantes de este fenotipo morfológico.
- Miopatía con "cores" centrales
 - Se observan zonas centrales de las fibras 1 desprovistas de actividad oxidativa.
 - Su ultraestructura se corresponde con focos de distorsión del material contráctil.
 - Algunos de los pacientes tienen mutaciones en el receptor de rianodina y están expuestos a sufrir episodios de hipertermia maligna.

CONCLUSIÓN

El estudio de la patología muscular es sumamente especializado y ha de ser hecho en conjunto con neurólogos, neurofisiólogos y genetistas. El papel del patólogo es muy importante para garantizar que la muestra sea procesada adecuadamente y determinar si la patología que se sospecha corresponde a su ámbito de diagnóstico o se ha de derivar a un centro de referencia.

Procesamiento y evaluación de la biopsia de Nervio Periférico

Eloy Rivas Infante

Hospital Universitario Virgen del Rocío-IBIS, Sevilla

INTRODUCCIÓN

Las neuropatías periféricas (NP) son uno de los grupo de patología más prevalentes, amplios y heterogéneos que existen en el campo de las enfermedades neurológicas [1]. Presentan una gran complejidad etiológica que supone con frecuencia un enorme reto diagnóstico [1,2]. El estudio de las NP requiere un abordaje multidisciplinar en el que la biopsia de nervio (BN) juega un papel fundamental en muchos casos, proporcionando la información clave para la caracterización del proceso patológico y el manejo terapéutico del paciente. Su estudio es complejo y debe de ser realizado por especialistas con experiencia y una formación específica, y en centros que aseguren un procesamiento adecuado de las muestras [3,4].

Aunque la BN ha sido una técnica muy utilizada desde los años 50, su uso han ido disminuyendo considerablemente en las últimas décadas [4]. Algunas de las causas que explican este descenso son la pérdida de personal con la capacitación técnica adecuada, el desconocimiento por parte de patólogos y neurólogos generales de la complejidad en su manejo y de la información que puede proporcionar y los avances en el diagnóstico genético de las NP hereditarias [4]. La ausencia de consensos internacionales y de guías de buena práctica no han hecho sino acrecentar el debate generado en cuanto a su utilidad y el valor que puede ofrecer en el diagnóstico y manejo de pacientes con una NP [3].

Ante este problema y el creciente interés que este tema había suscitado, en el año 2006 se organizó un grupo de trabajo internacional con el objetivo de consensuar y elaborar unas guías prácticas para el procesamiento y evaluación de la BN, que fueron publicadas en diversas revisiones de consenso a partir del año 2008 [1,2,5]. Este trabajo ha sido elaborado basándose en estas guías [1,2,5] y en otras revisiones monográficas recientemente publicadas [3,4,6–9] con el objetivo de ofrecer una guía práctica y actualizada de referencia a patólogos o neuropatólogos para el estudio de la BN: como y cuando biopsiar, como procesar las muestras, que técnicas tienen que realizarse y para que .

I. INDICACIONES PARA LA BIOPSIA DE NERVIO

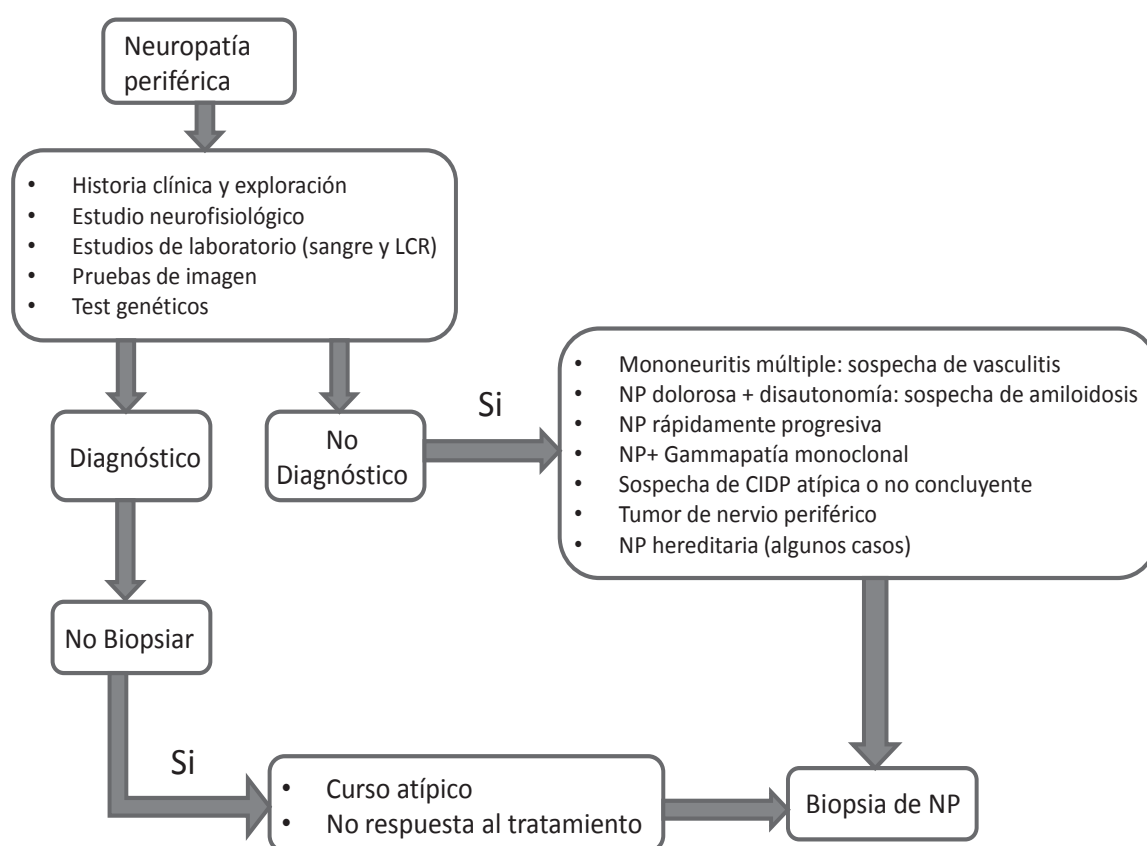
I.I. CONSIDERACIONES GENERALES

La BN es una técnica invasiva que deja un déficit sensitivo y que tiene como efectos secundarios síntomas positivos transitorios como parestesias, en un 30% de los pacientes [1]. Por otro lado no todos los pacientes con una NP necesitan una biopsia por lo que cada caso tiene que ser evaluado de forma

individual, valorando la relación entre riesgos y beneficio. La BN sólo estará indicada en los casos donde pueda aportar una información decisiva en la toma de decisiones del caso o cuando el cuadro clínico sea atípico [1].

La BN tiene que ser siempre el último escalón en el proceso diagnóstico de un paciente con una neuropatía periférica, y se hará únicamente después de que se haya realizado un estudio completo del paciente que incluya una detallada exploración clínica y neurofisiológica y un exhaustivo trabajo de laboratorio [1]. No debe por lo tanto realizarse cuando las causas de una NP se puedan identificar por métodos no invasivos. Además, sólo debería hacerse si es posible asegurar un adecuado procesamiento y una completa técnica del nervio, y un estudio histopatológico completo que sea llevado a cabo por un patólogo con experiencia.

Figura 1. Algoritmo para la realización de una biopsia de nervio. (adaptado de Vallat JM et al. *Acta Neuropath*, 2011)



I.II. INDICACIONES ESPECÍFICAS

La validez y utilidad de una BN depende directamente de que la indicación sea la adecuada. Será, por lo tanto, el factor determinante para que la BN pueda aportar una información relevante para el diagnóstico de una neuropatía o el manejo terapéutico de un paciente. Por norma general la BN está indicada siempre que se sospeche una patología “intersticial”, entendiéndose por intersticial patología inflamatoria como vasculitis o sarcoidosis, patología disimmune, como las neuropatías desmielinizantes idiopáticas crónicas (CIDPs), patología infecciosa como la lepra, o enfermedades por depósito como la amiloidosis [1–3,5]. En las neuropatías hereditarias, la BN puede proporcionar en algunas ocasiones una información clave que permita orientar el estudio genético [1,2,5]. Por el contrario, en casos de neuropatías tóxicas o metabólicas la BN rara vez contribuye al diagnóstico [1,2,5].

Tabla 1. Indicaciones de la biopsia de nervio

<p>Indicaciones absolutas (la biopsia puede ser muy útil)</p> <p>Patología inflamatoria: vasculitis, granulomatosis y sarcoidosis</p> <p>Patología-neuropatías disímunes asociadas a gammopatías: CIDP, MGUS, POEMS</p> <p>Patología infecciosa: lepra, enfermedad de Lyme</p> <p>Patología por depósito: amiloidosis, Fabry, leucodistrofias, E. cuerpos poliglucosanos</p> <p>Patología tumoral (focal): neurolinfomatosis, perineuromas, tumores de vaina nerviosa</p> <p>Indicaciones relativas (la biopsia puede aportar alguna información útil)</p> <p>Neuropatías hereditarias: en algunos casos puede aportar la clave para orientar el estudio genético</p> <p>No indicada (la biopsia no aporta información relevante)</p> <p>Neuropatías tóxicas</p> <p>Neuropatías metabólicas</p>
--

Existen otros factores clínicos y patológicos que pueden afectar la rentabilidad de la misma: la BN será más frecuentemente útil en pacientes con una neuropatía desmielinizante severa, distal, asimétrica/multifocal y de curso agudo o subagudo, que en una de tipo axonal, simétrica y crónica [2,5].

II. ELECCIÓN DEL NERVI

Se debe elegir un nervio sensitivo, distal y de fácil acceso que además esté clínicamente o electrofisiológicamente afecto [2,5]. El nervio de elección en la mayoría de los casos es el nervio sural. Como alternativa también se puede biopsiar el nervio peroneo superficial o el nervio radial superficial en caso de una neuropatía de miembro superior [1,2]. Cuando se sospechan lesiones focales en un nervio, como una neuritis focal o un tumor, la pruebas de imagen como la RM son fundamentales a la hora de identificar y localizar con precisión la lesión [1].

II.I. NERVI SURAL

El nervio sural es el nervio de elección por cumplir con todos los requerimientos: es de fácil acceso y localización, es sensitivo puro en el 90% de los casos y el territorio que inerva, en la cara lateral del pie, es pequeño [2,4,10,11]. Este nervio contienen entre 5 y 10-12 fascículos, y se afecta muy frecuentemente en casos de vasculitis, por lo que estaría aconsejado biopsiarlo incluso sin estar clínicamente afecto [1,2].

II.II. NERVI PERONEO SUPERFICIAL

El nervio peroneo superficial es una buena alternativa al nervio sural y tiene la ventaja de que con la misma incisión se puede obtener también un muestra del músculo peroneo brevis. Algunos estudios han demostrado que la biopsia combinada de músculo y nervio puede aumentar la rentabilidad en caso de sospecha de vasculitis [1,8,12,13].

III. PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

Las fibras nerviosas son muy sensibles al daño mecánico y al estiramiento, por lo que se tiene que evitar en lo posible dañar el nervio durante el acto de la biopsia. No utilizar forceps o clamps, ni aplastar el nervio con la pinza para evitar cualquier rotura o artefacto mecánico. El nervio tiene que ser manejado con sumo cuidado y manipulado por un cabo atado al extremo proximal, que es el primero que se secciona.

El tamaño de la biopsia es también crítico, por lo que es aconsejable realizar una biopsia de nervio amplia que asegure material suficiente para realizar todos los estudios. La mayoría de las guías recomienda una biopsia de

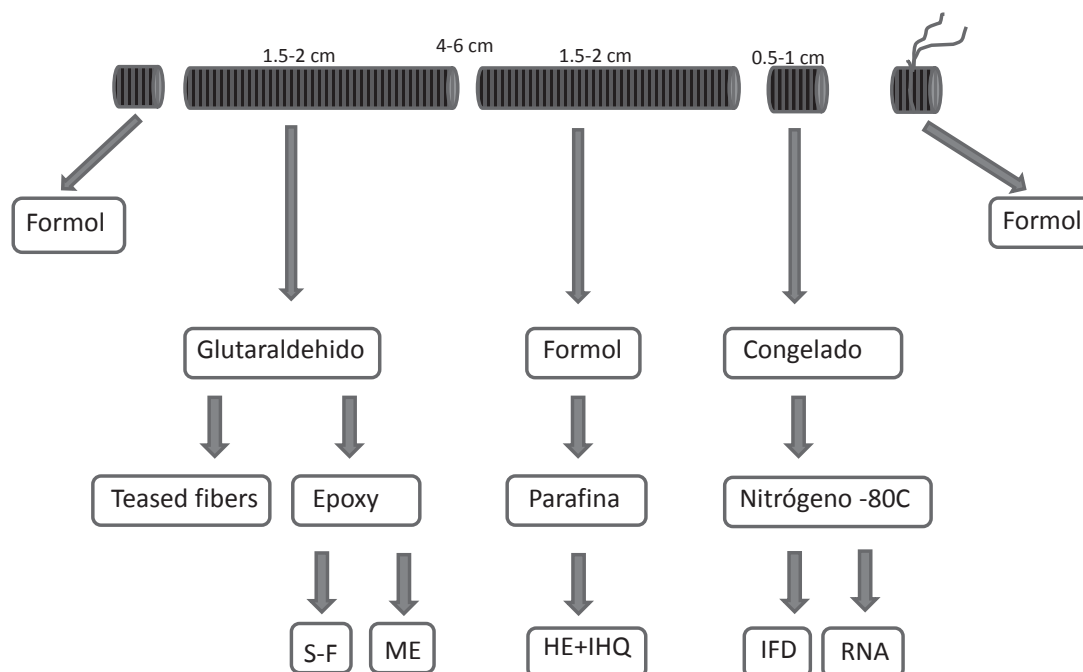
nervio de 5 o 6 cm de longitud [1,5], si bien un fragmento de nervio de 3-4 cm también permitiría en su defecto realizar un estudio bastante completo. Un tamaño adecuado mejorará además la rentabilidad diagnóstica en caso de lesiones focales como vasculitis o amiloidosis, sin aumentar las complicaciones. Las biopsias fasciculares sin embargo, no son recomendables ya que no disminuyen las complicaciones y son menos informativas.

IV. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Una vez obtenida la biopsia, el nervio se divide en 3 fragmentos para parafina, resina y congelación [1,3-5] (ver figura nº2):

1. **Parafina:** un fragmento de 1.5 o 2 cm se fijará en **paraformaldehído** tamponado para su inclusión en parafina. Se efectuarán cortes para obtener varias secciones transversales y una longitudinal. Los dos extremos de la biopsia, que suelen estar muy artefactados, se pueden incluir también en un bloque parafina para el estudio de la "patología intersticial". Se realizarán HE seriadas a 3-4 niveles, técnicas histoquímicas e técnicas inmunohistoquímicas.
2. **Resina-Epoxy:** un fragmento de 1.5 o 2 cm (el central o el mejor conservado) se fijará en **glutaraldehído** al 2.5% en buffer de cacodilato sódico al 0.05 M durante una hora, después se pasará a una solución de tetraóxido de osmio al 1% antes de su inclusión en epoxy. Se realizarán cortes semi-finos para el estudio de fibras nerviosas y morfometría, y cortes ultra-finos para el estudio ultraestructural. Si el fragmento tiene un tamaño adecuado también se puede realizar un estudio de fibras separadas o "teased fibers".
3. **Congelación:** un fragmento de 0.5 o 1 cm se congela en isopentano enfriado con nitrógeno líquido almacenándose a -80°C, para estudio de inmunofluorescencia directa, técnicas moleculares, y estudios bioquímicos o de proteínas.

Figura 2. Esquema del procesamiento y toma de muestras de la biopsia de nervio.



V. TECNIFICACIÓN

V.I. HE Y TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS

El estudio de los cortes transversales y longitudinales con la HE es siempre el primer paso en la evaluación de la BN, para buscar alteraciones en los vasos epineurales, inflamación, vasculitis o depósito de amiloide.

No es útil para estudiar alteraciones en las fibras nerviosas, patología de la mielina ni valorar o cuantificar la pérdida de fibras. En caso de no encontrar patología "intersticial" hay que seriar siempre el material, sobre todo si se sospecha patología vasculítica o amiloidosis [1,2,4,5,8].

Las técnicas histoquímicas adicionales permitirán completar el estudio de la HE, aumentando la sensibilidad en la identificación de lesiones específicas como depósito de amiloide (Rojo congo) o hierro (Pearl's), aumento de colágeno (T. Gomori), presencia de bacilos de lepra (Fite), alteraciones en la mielina (LFB) o lesiones en los vasos (Elástica de van Gieson / reticulina) [1,2].

V.II. TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ)

Los marcadores linfoides (CD3, CD20, CD4 y CD8) nos permiten tipificar el tipo de infiltrado inflamatorio. Es recomendable realizar un CD3 de rutina para identificar la presencia de linfocitos T aislados en el endoneuro que son casi imposibles de detectar con una HE. Este sutil hallazgo puede ser de gran valor en el diagnóstico de algunas neuropatías disímunes como la CIDP [3,14,15].

En el caso de no disponer de cortes semi-finos, la utilización de un marcador axonal como el PGP9.5 o neurofilamentos, nos permite hacer una aproximación rápida del número de fibras, cuantificar la pérdida de fibras y si esta es o no selectiva. Si realizamos una cuantificación hay que tener en cuenta que va a marcar tanto de fibras amielínicas como mielínicas.

Otros marcadores útiles son el EMA para patología de células perineurales, s100 para células de Schwann y PBM para la mielina [1].

Tabla 2. Panel básico de técnicas y patología a valorar [2]

Panel básico de técnicas	Patología a valorar
1. Secciones de parafina <ul style="list-style-type: none"> • HE seriadas • Técnicas histoquímicas <ul style="list-style-type: none"> - Rojo congo - Pearl's - T. Gomori • Técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) <ul style="list-style-type: none"> - Marcadores linfoides (CD3, CD20, CD68) - Marcadores de axones (NF o PGP9.5) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vasculitis, inflamación, granulomas, amiloide • Depósito de amiloide • Hierro por sangrado 2º a vasculitis • Fibrosis endoneural • Tipificación de los Infiltrados inflamatorios, macrófagos y linfocitos T endoneurales • Población de fibras (cuantificación)
2. Secciones semi-finas <ul style="list-style-type: none"> • Azul toluidina o MBA-BF 	<ul style="list-style-type: none"> • Valoración de las alt. en las fibras nerviosas • Alt. Axones: Ovoides de degeneración, clusters de regeneración • Alt. Mielina: bulbos de cebolla, desproporción mielino-axonal, g-ratio • Cuantificación de fibras y morfometría
3. Secciones ultra-finas-ME	<ul style="list-style-type: none"> • Alt compactación de la mielina, tomáculos • Inclusiones-depósitos, amiloide • Patología de las fibras amielínicas

V.III. CORTES SEMI-FINOS Y MORFOMETRÍA

Los cortes generalmente transversales, se realizan a 0.5 o 1 micras y se pueden teñir con dos técnicas [1,2,5,9]:

15. Azul de Toluidina: tejido queda en azul y la mielina en azul oscuro.

16. Azul metileno azul II-Fuscina Básica (MBA-BF): el queda tejido rosa y la mielina azul oscuro.

Esta es la mejor técnica para cuantificar y valorar las alteraciones en las fibras nerviosas (ver tabla 2) [1,2,5,9]:

- Número total de fibras mielinizadas (densidad de fibras mielinizadas x mm²)
- Cuantificación de las poblaciones de fibras, grandes, medianas y pequeñas
- Patología de la mielina: grosor de las vainas de mielina y desproporción mielino-axonal (g-ratio: diámetro axonal / diámetro total de la fibras), desmielinización, axones desnudos, bulbos de cebolla
- Patología axonal: ovoides de degeneración, clusters de regeneración axonal.
- Otras patologías anivel perineural y vascular.

Los estudio de morfometría con cuantificación de las poblaciones de fibras y del grosor de vainas de mielina (g ratio) se reserva para casos especiales o de investigación, y no se recomienda realizar de rutina por ser un trabajo complejo que requiere tiempo.

V.IV. "TEASED" FIBERS

Esta es una técnica laboriosa que requiere tiempo y personal técnico capacitado y experimentado. Hay que separar una a una las fibras nerviosas bajo una lupa y colocarlas en un porta hasta un número mínimo de 100 [9]. Se estudian las fibras longitudinalmente, analizando los segmentos internodales para valorar la degeneración de fibras, tomáculos, dilataciones/atrofia axonales y fenómenos de de- y remielinización. Como alternativa se pueden usar cortes semi-finos longitudinales [1]. A pesar de la información que puede aportar, su coste no justifica su realización en la evaluación de rutina de la BN [2].

V.V. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA: ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL

Es la técnica de elección si se quiere estudiar la patología de las fibras amielínicas, patología hereditaria de depósito (leudodistrofias o enf de Fabry), CADASIL o intoxicación por amiodarona [2]. El estudio ultraestructural es también fundamental si se quiere estudiar las alteraciones de la compactación de mielina en neuropatías asociadas a gammapatías, engrosamientos focales de las vainas mielina y otras características especiales en algunos casos de NP hereditarias [1,3,8,9].

CONCLUSIÓN

La BN es siempre el *último paso en el proceso diagnóstico de una neuropatía periférica*, y se realizará sólo después de haber realizado un completo estudio clínico, electrofisiológico y de laboratorio del paciente. Aunque el uso e indicaciones de la BN se han ido reduciendo en las últimas décadas, sigue siendo de gran utilidad para el diagnóstico de neuropatías potencialmente tratables relacionadas con patología vasculítica, inflamatoria, disimmune, infecciosa o por amiloidosis. También pueden aclarar cuadros clínicos atípicos, neuropatías que no respondan al tratamiento u orientar el estudio genético en algunas neuropatías hereditarias.

El *trabajo en equipo y la colaboración multidisciplinar* entre los diferentes profesionales es fundamental para asegurar la mayor rentabilidad diagnóstica. La BN es una prueba invasiva, que no puede repetirse si se produce algún fallo y que deja secuelas en el paciente, por lo que los errores en el laboratorio son inaceptables. Tenemos que asegurar que la indicación sea la correcta, que el procesamiento y técnica de la muestra sea el apropiado, que la información clínica del caso sea máxima posible y que la valoración neuropatológica de la muestra sea realizada por patólogos con entrenamiento y experiencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weis J, Brandner S, Lammens M, Sommer C, Vallat J-M. Processing of nerve biopsies: a practical guide for neuropathologists. Clin Neuropathol 2012; 31: 7–23.

2. Sommer C, Brandner S, Dyck PJ, Magy L, Mellgren SI, Morbin M, et al. 147th ENMC International Workshop: Guideline on processing and evaluation of sural nerve biopsies, 15–17 December 2006, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscular Disorders* 2008; 18: 90–6.
3. Vallat J-M, Funalot B, Magy L. Nerve biopsy: requirements for diagnosis and clinical value. *Acta Neuropathol* 2011; 121: 313–26.
4. Vallat J-M, Vital A, Magy L, Martin-Negrier M-L, Vital C. An Update on Nerve Biopsy. *Journal of Neuropathology* 2009; 68: 833–44.
5. Sommer CL, Brandner S, Dyck PJ, Harati Y, LaCroix C, Lammens M, et al. Peripheral Nerve Society Guideline on processing and evaluation of nerve biopsies. *Journal of the Peripheral Nervous System* 2010; 15: 164–75.
6. Mellgren SI, Lindal S. Nerve biopsy – some comments on procedures and indications. *Acta Neurologica Scandinavica* 2011; 124: 64–70.
7. King R, Ginsberg L. The nerve biopsy: indications, technical aspects, and contribution. *Handb Clin Neurol* 2013; 115: 155–70.
8. Vital A, Vital C. Clinical Neuropathology practice guide 3-2014: Combined nerve and muscle biopsy in the diagnostic workup of neuropathy – the Bordeaux experience. *Clinical Neuropathology* 2014;33: 172–8.
9. Dyck, P.J. and Thomas, P.K. *Peripheral neuropathy*. 4th ed. Elsevier, Philadelphia; 2005.
10. Oh SJ. Diagnostic usefulness and limitations of the sural nerve biopsy. *Yonsei Med J* 1990; 31: 1-26.
11. Kanda T. Usefulness of sural nerve biopsy in the genomic era. *Neuropathology* 2009; 29: 502–8.
12. Agadi JB, Raghav G, Mahadevan A, Shankar SK. Usefulness of superficial peroneal nerve/peroneus brevis muscle biopsy in the diagnosis of vasculitic neuropathy. *Journal of Clinical Neuroscience* 2012; 19: 1392–6.
13. Vital C, Vital A, Canron M-H, Jaffré A, Viillard J-F, Ragnaud J-M, et al. Combined nerve and muscle biopsy in the diagnosis of vasculitic neuropathy. A 16-year retrospective study of 202 cases. *J Peripher Nerv Syst* 2006;11: 20–9.
14. Sommer C, Koch S, Lammens M, Gabreels-Festen A, Stoll G, Toyka KV. Macrophage clustering as a diagnostic marker in sural nerve biopsies of patients with CIDP. *Neurology* 2005; 65: 1924–9.
15. Tracy JA, Dyck PJB. Investigations and treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy and other inflammatory demyelinating polyneuropathies. *Curr Opin Neurol* 2010;23:242–8.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE CABEZA Y CUELLO DE LA SEAP

Introducción

Llúcia Alós, coordinadora del club

Correspondencia: LALOS@clinic.ub.es

La patología de cabeza y cuello comprende una gran variedad de lesiones y procesos neoplásicos, debido a la alta complejidad anatómica e histológica de la región. Sin embargo hemos seleccionado cuatro protocolos diagnósticos de lesiones neoplásicas malignas que el patólogo general encuentra más frecuentemente: los tumores de la cavidad oral y del labio, tumores de la faringe, tumores de la laringe y los vaciamientos ganglionares cervicales. En estos protocolos se han incluido todos aquellos datos que deben constar en el informe anatomopatológico, incluida la estadificación de los tumores, ya que la finalidad del mismo no es sólo establecer un diagnóstico correcto, si no también ofrecer al clínico datos sobre el pronóstico, riesgo de recidivas tumorales y de metástasis, para ofrecer un tratamiento adecuado a los pacientes.

En estos protocolos hemos actualizado algunos de los aspectos emergentes desde la última edición de la OMS en el año 2005, entre los que cabe destacar la detección de los carcinomas relacionados con la infección por el virus del papiloma humano, por la importancia pronóstica y para el manejo del paciente que supone.

Estos protocolos han sido elaborados siguiendo el modelo habitual de redacción del informe anatomopatológico de los tumores de vías aero-digestivas altas, con la intención que estuvieran incluidos todos los elementos histológicos con valor pronóstico de forma sistematizada. Nos parece muy importante la unificación de los diagnósticos anatomopatológicos, y que estos modelos puedan servir de guías diagnósticas para consulta por parte de nuestros compañeros patólogos.

En este sentido aplaudimos y a la vez agradecemos la iniciativa de la SEAP en su publicación y difusión.

Patología Tumoral de Cabeza y Cuello.

Protocolos diagnósticos

Llúcia Alòs ⁽¹⁾, Rosario Carrillo ⁽²⁾, Margarita Alberola ⁽³⁾, Maria Rosa Bella ⁽⁴⁾, Montserrat Gomà ⁽⁵⁾

(1) Hospital Clínic, Universidad de Barcelona

(2) Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid

(3) Hospital Universitario de la Vall d'Hebrón, Barcelona

(4) Corporació Sanitària del Parc Taulí, Sabadell

(5) Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona

I. CARCINOMA DE CAVIDAD ORAL Y LABIO

1. Procedencia de la muestra

Labio (superior, inferior, comisura), lengua (borde lateral, dorso, cara ventral), encía (superior, inferior), suelo de la boca, paladar (duro, blando), mucosa yugal (mejilla interna), vestíbulo, procesos alveolares, mandíbula, maxilar superior, otra (especificar), no especificada

2. Tipo de muestra

- Biopsia escisional
- Pieza de resección: glosectomía, mandibulectomía, maxilectomía, palatectomía, otro, no especificada

3. Tumor, tipo histológico

Carcinoma escamoso. Especificar subtipo:

- Convencional
- Basaloide
- Verrucoso
- Papilar
- Acantolítico
- Fusocelular
- Adenoescamoso
- Carcinoma linfoepitelial
- Carcinoma de células gigantes

Carcinoma de glándula salival menor:

- Carcinoma adenoide-quístico (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Carcinoma mucoepidermoide (bajo grado, grado intermedio, alto grado)

- Adenocarcinoma (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Adenocarcinoma polimorfo de bajo grado
- Carcinoma de células acinares
- Adenocarcinoma de células basales
- Carcinoma mioepitelial
- Carcinoma epitelial-mioepitelial
- Carcinoma ductal de glándula salival
- Cistadenocarcinoma
- Otros (especificar)
- Carcinoma (el subtipo histológico no puede ser especificado)

Carcinoma neuroendocrino:

- Tumor carcinoide (carcinoma neuroendocrino bien diferenciado)
- Tumor carcinoide atípico (carcinoma neuroendocrino moderadamente diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula grande (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino combinado (especificar)

Otro (especificar)

4. Grado de diferenciación del tumor

- No evaluable (Gx)
- Bien diferenciado (G1)
- Moderadamente diferenciado (G2)
- Poco diferenciado (G3)
- No aplicable

5. Tumor, localización (señalar todas las estructuras afectadas, lateralidad y afectación de línea media)

- Labio (superior, inferior, comisura)
- Lengua (borde lateral, dorso, cara ventral)
- Encía (superior, inferior)
- Suelo de la boca
- Paladar (duro, blando)
- Mucosa yugal (mejilla interna)
- Vestíbulo
- Otra (especificar)

6. Tamaño del tumor

- Extensión máxima en superficie
- Infiltración máxima en profundidad

7. Estructuras que infiltra en profundidad

- Corion, tejido muscular (especificar localización), tejido óseo (especificar localización), otros (especificar)

8. Focalidad

- Foco único
- Focos múltiples (especificar)

9. Tipo de crecimiento

En superficie:

- Polipoide
- Exofítico
- Ulcerado
- Otro

En profundidad:

- Patrón expansivo
- Patrón infiltrativo;
 - Especificar si hay crecimiento en forma de células sueltas o nidos pequeños de menos de 15 células
 - Especificar si hay satélites tumorales a más de 1 mm de la tumoración principal.

10. Invasión linfo-vascular

- No identificada
- Presente

11. Invasión perineural

- No identificada
- Presente. Especificar si afecta nervios pequeños o nervios grandes (mayores de 1mm.)

12. Respuesta linfoide

- Ausente o escasa
- Intensa y discontinua
- Intensa y continua

13. Cambios por tratamiento neoadyuvante, si procede

14. Alteraciones en mucosa no tumoral

- Carcinoma in situ. Especificar extensión
- Displasia:
 - Especificar tipo de displasia y grado:
 - Displasia queratinizante: asienta en el contexto de una maduración parcial del epitelio, con queratinización del epitelio de superficie. Los cambios de displasia se observan en las capas basal y suprabasal. Las displasias queratinizantes se clasifican en displasia de bajo grado y displasia de alto grado, según la atipia cito-arquitectural en las capas basal y parabasal. La displasia queratinizante de alto grado debe considerarse como un carcinoma in situ, ya que pueden desarrollarse carcinomas infiltrantes a partir de estas lesiones.
 - Displasia no queratinizante: este tipo de displasia se asemeja a la displasia del cérvix uterino y, al igual que en esta localización se clasifica en tres grados según la atipia cito-arquitectural: leve, moderada y severa.
 - Especificar extensión del área de displasia.
- Otras alteraciones (especificar)

15. Márgenes quirúrgicos

- No evaluables
- Libres de lesión (situados a más de 0,5 cms.)
- Cercanos (situados a menos de 0,5 cms.). Especificar distancia y localización.

- Márgenes afectos de neoplasia (especificar localización)
- Márgenes afectos de displasia (especificar tipo, grado y localización)

16. Resultado de técnicas complementarias, si procede

La inmunotinción extensa y difusamente positiva de la proteína p16 en los carcinomas escamosos de cavidad oral (excluida orofaringe) no se considera un marcador subrogado de la infección por el virus del papiloma humano. Esta infección vírica debe confirmarse en los carcinomas escamosos p16 positivos con técnicas moleculares que detecten el ADN o las oncoproteínas E6/E7 del VPH.

17. Estadio patológico: pT

- pTx: no puede ser evaluado
- pT0: no se evidencia tumor primario
- pTis: carcinoma in situ
- pT1: tumor de 2 cms. o menos
- pT2: tumor de más de 2 cms., pero inferior a 4 cms.
- pT3: tumor de más de 4 cms.
- pT4a:

Labio: tumor que invade el hueso, nervio inferior alveolar, suelo de boca o piel facial

Cavidad oral: tumor que invade estructuras adyacentes: hueso (mandíbula o maxilar superior), musculatura profunda extrínseca de la lengua (músculo geniogloso, hiogloso, palatogloso o estilogloso), seno maxilar o piel facial.

- pT4b: tumor que invade espacio masticador, pterigoides, base de cráneo o se adhiere a arteria carótida interna.

Nota: La erosión superficial del hueso mandibular por un tumor primario gingival no es suficiente para clasificarlo como pT4.

II. CARCINOMA DE FARINGE

1. Procedencia de la muestra

Orofaringe, nasofaringe, hipofaringe, otra (especificar), no especificada

2. Tipo de muestra

- Biopsia escisional
- Pieza de resección (tonsilectomía, laringo-faringectomía, otro)
- No especificada

3. Tipo histológico del tumor (1)

Carcinomas de la orofaringe y de la hipofaringe

- Carcinoma escamoso convencional. Especificar: queratinizante/no queratinizante
- Basaloide
- Verrucoso
- Papilar
- Acantolítico
- Fusocelular
- Adenoescamoso
- Carcinoma linfoepitelial (no nasofaríngeo)
- Carcinoma de células gigantes

Carcinomas de la nasofaringe

- Carcinoma escamoso queratinizante
- Carcinoma no queratinizante diferenciado
- Carcinoma indiferenciado (linfoepitelial)
- Adenocarcinoma papilar nasofaríngeo
- Otro (especificar)

Carcinoma de glándula salival menor:

- Carcinoma adenoide-quístico (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Carcinoma mucoepidermoide (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Adenocarcinoma (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Adenocarcinoma polimorfo de bajo grado
- Carcinoma de células acinares
- Adenocarcinoma de células basales
- Carcinoma mioepitelial
- Carcinoma epitelial-mioepitelial
- Carcinoma ductal de glándula salival
- Cistadenocarcinoma
- Otros (especificar)
- Carcinoma (el subtipo histológico no puede ser especificado)

Carcinoma neuroendocrino:

- Tumor carcinoide (carcinoma neuroendocrino bien diferenciado)
- Tumor carcinoide atípico (carcinoma neuroendocrino moderadamente diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula grande (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino combinado (especificar)

4. Grado de diferenciación (1)

- No evaluable (Gx)
- Bien diferenciado (G1)
- Moderadamente diferenciado (G2)
- Poco diferenciado (G3)
- No aplicable

5. Tumor, localización (señalar todas las estructuras afectadas y lateralidad/afectación de línea media)

- Orofaringe (amígdala palatina, base de lengua y amígdala lingual, paladar blando, úvula, pared faríngea posterior, otra)
- Nasofaringe
- Hipofaringe (seno piriforme, postcricoides, pared faríngea posterior o lateral)

6. Tamaño del tumor

- Extensión máxima
- Infiltración máxima en profundidad

7. Estructuras que infiltra en profundidad

- Corion, tejido muscular (especificar), tejido óseo (especificar), otros (especificar)

8. Focalidad

- Foco único
- Focos múltiples (especificar)

9. Tipo de crecimiento

- En superficie (polipoide/ exofítico/ ulcerado/otros)
- En profundidad (patrón expansivo o patrón infiltrativo)

10. Invasión linfo-vascular

- No identificada
- Presente

11. Invasión perineural

- No identificada
- Presente. Especificar si afecta nervios pequeños o nervios grandes (mayores de 1mm.)

12. Respuesta linfoide

- Ausente o escasa
- Intensa y discontinua
- Intensa y continua

13. Cambios por tratamiento neoadyuvante, si procede

14. Alteraciones en mucosa no tumoral

- Carcinoma in situ. Especificar extensión
- Displasia. Especificar tipo: queratinizante/no queratinizante
- Especificar grado: leve, moderada, severa
- Especificar extensión
- Otras alteraciones (especificar)

15. Márgenes quirúrgicos

- No evaluables
- Libres de lesión (situados a más de 0,5 cms.)
- Cercanos (situados a menos de 0,5 cms.). Especificar distancia y localización.
- Márgenes afectados de neoplasia (especificar localización)
- Márgenes afectados de displasia (especificar grado y localización)

16. Técnicas complementarias:

Carcinoma de orofaringe:

Realizar en todos los casos estudio de la infección por virus del papiloma humano (VPH):

Técnicas a utilizar:

- p16: tinción inmunohistoquímica. Se recomienda realizar esta inmunotinción en todos los carcinomas escamosos de la orofaringe.

Se considera marcador subrogado de la infección por VPH la positividad intensa y difusa de p16 (en más del 70% de la celularidad neoplásica, con tinción intensa citoplasmática y nuclear) en los carcinomas escamosos no queratinizantes de orofaringe.

- Detección del ADN del VPH. Puede realizarse mediante técnicas de PCR o de hibridación in situ. Se recomienda el uso de sondas que detecten la mayor parte de cepas del VPH de alto riesgo oncogénico, ya que si bien en más del 90% el VPH involucrado es el VPH16, en bajo porcentaje pueden estar involucrados otros subtipos, como son el VPH18, VPH35, etc.
- Detección de las oncoproteínas E6 y/o E7 del VPH. La detección de estas oncoproteínas virales tiene la ventaja que confirma que el VPH es transcripcionalmente activo y, por tanto causal del

carcinoma. Puede realizarse mediante técnicas de PCR, RT-PCR (detección del mRNA de E6 y/o E7) o hibridación in situ.

Se recomienda realizar la detección del ADN o de las oncoproteínas E6y/oE7 del VPH en los carcinomas escamosos orofaríngeos no queratinizantes p16 negativos y en los carcinomas escamosos orofaríngeos queratinizantes p16 positivos.

Carcinoma de nasofaringe:

Realizar detección del virus de Epstein-Barr, mediante hibridación in situ (EBER) en todos los carcinomas de nasofaringe.

Comentario:

Los resultados de ambas infecciones virales han de constar junto al tipo histológico del carcinoma.

En los carcinomas escamosos relacionados con el VPH se obviará el grado histológico (p ej: "Carcinoma escamoso no queratinizante asociado al VPH").

17. Estadio patológico (pT)

Orofaringe:

- pTx: no puede ser evaluado
- pT0: no se evidencia tumor primario
- pTis: carcinoma in situ
- pT1: tumor de 2 cms. o menos
- pT2: tumor de más de 2 cms., pero inferior a 4 cms.
- pT3: tumor de más de 4 cms. o que se extiende a la cara lingual de la epiglotis.
- pT4a: tumor que invade laringe, musculatura extrínseca lingual, musculatura pterigoides, paladar duro o mandíbula.
- pT4b: tumor que invade músculo pterigoides, apófisis pterigoides, nasofaringe, base de cráneo o se adhiere a arteria carótida interna.

Nota: la extensión mucosa de la cara lingual laríngea por tumores de base de lengua o valécula no indica infiltración laríngea.

Nasofaringe:

- pTx: no puede ser evaluado
- pT0: no se evidencia tumor primario
- pTis: carcinoma in situ
- pT1: tumor confinado a nasofaringe, o que se extiende a orofaringe y/o cavidad nasal, sin extensión parafaríngea.
- pT2: tumor con extensión parafaríngea (infiltración posterolateral).
- pT3: tumor que invade estructuras óseas de la base de cráneo y/o senos paranasales.
- pT4: tumor con extensión intracraneal y/o afectación de nervios craneales, hipofaringe, órbita o extensión a fosa infratemporal o espacio masticador.

Hipofaringe:

- pTx: no puede ser evaluado
- pT0: no se evidencia tumor primario
- pTis: carcinoma in situ
- pT1: tumor limitado a una localización de la hipofaringe y/o de 2 cms. o menos
- pT2: tumor que invade más de una localización de la hipofaringe o una estructura adyacente o de más de 2 cms., pero inferior a 4 cms., sin fijación de la hemilaringe.
- pT3: tumor de más de 4 cms. o con fijación de la hemilaringe o con extensión a esófago.
- pT4a: tumor que invade cartílagos tiroideos, cricoides, hueso hioides, glándula tiroideas o compartimento central de tejidos blandos (musculatura prelaríngea o tejido celular subcutáneo).
- pT4b: tumor que invade fascia prevertebral, se adhiere a arteria carótida o infiltra estructuras mediastínicas.

III. CARCINOMA DE LARINGE

1. Procedencia de la muestra

- Laringe
- Supraglotis
- Glotis
- Subglotis
- No especificada

2. Tipo de muestra

- Biopsia escisional
- Resección: excisión endolaríngea, excisión transoral por láser, cordectomía, laringectomía supraglótica, laringectomía supracricoidea, laringectomía parcial (especificar), laringectomía total, laringectomía total ampliada (especificar), otra (especificar)

3. Tumor, tipo histológico

Carcinoma escamoso. Especificar subtipo:

- Convencional
- Basaloide
- Verrucoso
- Papilar
- Acantolítico
- Fusocelular
- Adenoescamoso
- Carcinoma linfoepitelial
- Carcinoma de células gigantes

Carcinoma neuroendocrino:

- Tumor carcinoide (carcinoma neuroendocrino bien diferenciado)
- Tumor carcinoide atípico (carcinoma neuroendocrino moderadamente diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula grande (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (carcinoma neuroendocrino poco diferenciado)
- Carcinoma neuroendocrino combinado (especificar)

Carcinoma de tipo glándula salival:

- Carcinoma adenoide-quístico (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Carcinoma mucoepidermoide (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Adenocarcinoma (bajo grado, grado intermedio, alto grado)
- Otros (especificar)
- Carcinoma: el subtipo histológico no puede ser especificado)

4. Grado de diferenciación del tumor

- No evaluable (Gx)
- Bien diferenciado (G1)
- Moderadamente diferenciado (G2)
- Poco diferenciado (G3)
- No aplicable

5. Tumor, localización (señalar todas las estructuras afectadas, lateralidad, afectación de línea media)

- Supraglotis (epiglotis, pliegue ariteno-epiglótico, aritenoides, banda ventricular, ventrículo)

- Glotis (cuerda vocal, comisura anterior, comisura posterior)
- Subglotis
- Otras (especificar)

6. Tejidos infiltrados en profundidad

- Corion, cartílagos (especificar), tejido muscular, tejidos perilaríngeos (especificar)

7. Tamaño del tumor

- Dimensión mayor (especificar extensión en superficie y medida de infiltración máxima en profundidad)

8. Focalidad

- Foco único
- Focos múltiples (especificar)

9. Tipo de crecimiento

- En superficie (polipoide/ exofítico/ ulcerado/otros)
- En profundidad (patrón expansivo o patrón infiltrativo)

10. Invasión linfo-vascular

- No identificada
- Presente

11. Invasión perineural

- No identificada
- Presente

12. Respuesta linfoide

- Ausente o escasa
- Intensa y discontinua
- Intensa y continua

13. Cambios por tratamiento neoadyuvante, si procede

14. Alteraciones en mucosa no tumoral

- Carcinoma in situ. Especificar extensión
- Displasia:
 - Especificar tipo: queratinizante/no queratinizante
 - Especificar grado: leve/moderada/severa
 - Especificar extensión del área de displasia.
- Otras alteraciones (especificar)

15. Márgenes quirúrgicos

- No evaluables
- Libres de lesión (especificar márgenes más cercanos y distancia)
- Márgenes afectos de neoplasia (especificar localización)
- Márgenes afectos de carcinoma in situ (especificar localización) o de displasia (especificar grado y localización)

16. Resultado de técnicas complementarias, si procede

La inmunotinción extensa y difusamente positiva de la proteína p16 en los carcinomas escamosos de laringe no se considera un marcador subrogado de la infección por el virus del papiloma humano. Esta infección vírica debe confirmarse en los carcinomas escamosos p16 positivos con técnicas moleculares que detecten el ADN o las oncoproteínas E6/E7 del VPH.

17. Estadio patológico (pT)**a) Supraglotis**

- pTis: Carcinoma in situ
- pT1: Limitado a una sublocalización de la supraglotis con movilidad normal de la cuerda vocal
- pT2: Sin fijación de las cuerdas vocales:
- Invade la mucosa de más de una sublocalización de la supraglotis
- Invade la glotis
- Invade una región fuera de la supraglotis (por ejemplo: mucosa de la base de la lengua, valécula, pared medial de seno piriforme, otras estructuras)
- pT3: Limitado a la laringe con fijación de las cuerdas vocales y/o que invade algunas de las siguientes estructuras: área postcricoidea, espacio paraglótico, espacio preepiglótico y/o erosión mínima de cartílago tiroides (pericondrio interno).
- pT4a: Invade cartílago tiroides o invade más allá de la laringe: tráquea, partes blandas del cuello, musculatura extrínseca de la lengua, músculos prelaríngeos, tiroides, esófago, otros (especificar)
- pT4b: Invade espacio prevertebral, afecta arteria carótida o invade estructuras mediastínicas

b) Glotis

- pTis: Carcinoma in situ
- pT1: pT1a: Tumor limitado a una cuerda vocal (puede afectar a la comisura anterior o posterior) con movilidad normal
- pT1b: Tumor limitado a ambas cuerdas vocales (puede afectar a la comisura anterior o posterior) con movilidad normal
- pT2: Se extiende a la supraglotis, y/o se extiende a la subglotis y/o altera la movilidad de las cuerdas vocales, sin paralizarlas
- pT3: Tumor limitado a la laringe con fijación de la cuerda vocal y/o invade el espacio paraglótico y/o con erosión mínima del cartílago tiroides (pericondrio interno)
- pT4a: Invade cartílago tiroides o invade más allá de la laringe: tráquea, partes blandas del cuello, musculatura extrínseca de la lengua, músculos prelaríngeos, tiroides, esófago, otros (especificar)
- pT4b: Invade espacio prevertebral, afecta arteria carótida o invade estructuras mediastínicas

c) Subglotis

- pTis: Carcinoma in situ
- pT1: Tumor limitado a subglotis
- pT2: Tumor que se extiende a la(s) cuerda(s) vocal(es) con movilidad normal o disminuída
- pT3: Tumor limitado a la laringe con fijación de la cuerda vocal
- pT4a: Invade cartílago tiroides o invade más allá de la laringe: tráquea, partes blandas del cuello, musculatura extrínseca de la lengua, músculos prelaríngeos, tiroides, esófago, otros (especificar)
- pT4b: Invade espacio prevertebral, afecta arteria carótida o invade estructuras mediastínicas

IV. VACIAMIENTOS GANGLIONARES LATERO-CERVICALES

(válido para el carcinoma de laringe, de cavidad oral y labio, faringe y de fosas nasales y senos paranasales)

1. Tipo de disección ganglionar (especificar lateralidad)

- Radical
- Funcional
- Supraomohioideo (niveles I-III)
- Posterolateral (niveles II-V, ganglios retroauriculares y occipitales)
- Lateral (niveles II, III y IV)
- Anterior (nivel VI)

2. Estudio de los ganglios en cada nivel (marcados por el cirujano)

- Nivel I:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar
- Nivel II:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar
- Nivel III:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar
- Nivel IV:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar
- Nivel V:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar
- Nivel VI:
 - Número de ganglios aislados
 - Número de ganglios positivos
 - Tamaño de la metástasis mayor
 - Presencia o ausencia de ruptura capsular ganglionar/extensión extraganglionar

3. Estadio patológico (pN)

- pNX: no se puede determinar
- pN0: Sin metástasis
- pN1: Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, de 3 cm o menor.
- pN2a: Metástasis en un único ganglio linfático ipsilateral, mayor de 3 cm pero menor de 6cm.
- pN2b: Metástasis en varios ganglios linfáticos ipsilaterales, no mayores de 6cm.
- pN2c: Metástasis en ganglios linfáticos contralaterales, no mayores de 6cm
- pN3: Metástasis en un ganglio linfático mayor de 6cm.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. WHO histological classification of tumours of the hypopharynx, larynx and trachea. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, eds. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. Lyon, France: IARC Press; 2005.
2. Mills SE, Stelow EB, Hunt JL. Tumors of the Upper Aerodigestive Tract and Ear. AFIP Atlas of Tumor Pathology. Series 4. 2012.
3. Patel S, Shah JP. Larynx. In: Edge SB, Byrd DR, Carducci MA, Compton CA, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed. New York: Springer; 2009:57-68.
4. Brandwein-Gensler M, Teixeira MS, Lewis CM, et al. Oral squamous cell carcinoma: histologic risk assessment, but not margin status, is strongly predictive of local disease-free and overall survival. *Am J Surg Pathol* 2005;29(2):167-78.
5. Gillison ML, Lowy DR. A causal role for human papillomavirus in head and neck cancer. *Lancet* 2004; 363:1488-1489.
6. Lewis JS, Khan RA, Masand RP, et al Recognition of nonkeratinizing morphology in oropharyngeal squamous cell carcinoma: a prospective cohort and interobserver variability study. *Histopathology* 2012; 60:427-436.
7. El-Naggar AK, Westra WH. P16 expression as a surrogate marker for HPV-related oropharyngeal carcinoma: a guide for interpretative relevance and consistency. *Head Neck* 2012; 34:459-461.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA DIGITAL DE LA SEAP

Introducción

Antonio Félix Conde Martí, coordinador del club

Correspondencia: felixconde@telefonica.net

Las tecnologías de la información y comunicación (TIC) han transformado la forma de trabajar en nuestros servicios de patología a lo largo de las últimas décadas. De la edición de informes a la forma en que vemos y compartimos las imágenes y su información asociada, todo va cambiando. Los flujos de trabajo de nuestros laboratorios se organizan y podemos determinar con exactitud la secuencia que ha seguido cada muestra y qué recursos hemos utilizado en su estudio. La información generada en el servicio de patología se estructura e integra en bases de datos dinámicas, convirtiéndose en la base de registros epidemiológicos. El proceso culmina con la digitalización del trabajo de rutina, acción todavía pionera en algunos centros, pero que dadas las ventajas que supone sobre el trabajo con preparaciones físicas (seguridad, disponibilidad, cuantificación objetiva de biomarcadores, archivo...) se terminará extendiendo.

Más que una guía clínica al uso, el presente capítulo recoge las recomendaciones que el Club de Patología Digital considera importantes en cada uno de los elementos del proceso de transformación de nuestros servicios en su vertiente asistencial. Finalmente se exponen algunas reflexiones sobre la adaptación de la normativa legal al nuevo entorno de trabajo.

Guía práctica para la implantación de la patología digital

Marcial García Rojo¹, Antonio Félix Conde², Jaume Ordi³, Juan Ruiz Martín⁴, Josep M^a Corominas⁵, Ramiro Álvarez Alegret⁶, Luis Alfaro⁷, Sonia Gatius⁸, Xavier Matias Guiu⁸, Enrique de Álava⁹, José Ramírez³

1. *Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz.*
2. *Hospital Universitario Perpetuo Socorro Badajoz.*
3. *Hospital Clínic, Barcelona.*
4. *Complejo Hospitalario de Toledo.*
5. *Hospital del Mar. Barcelona.*
6. *Hospital Universitario Miguel Server, Zaragoza.*
7. *Hospital Rey Don Jaime, Castellón.*
8. *Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Lérida.*
9. *Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.*

I. INTRODUCCIÓN. ALCANCE Y JUSTIFICACIÓN

La anatomía patológica se enfrenta una creciente demanda de volumen de trabajo, mayor cantidad de información que debe generarse en cada informe y mejora en la calidad, exactitud diagnóstica y seguridad del paciente. A menudo, se esgrimen argumentos económicos para evolucionar hacia un modelo centralizado de servicios diagnósticos, con el fin de mejorar el acceso a los expertos o a servicios muy especializados.

Paralelamente, la anatomía patológica en nuestro país está viviendo cambios significativos en los últimos cinco años con el avance de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC), que en nuestra especialidad, hasta el momento se han concretado en la mejora de los sistemas de información de anatomía patológica (SIAP) o LIS (Laboratory Information System, en inglés), el impulso de la trazabilidad de muestras y la incorporación de la imagen digital microscópica.

El concepto de patología digital incluye todos los aspectos relacionados con el uso de las TIC en anatomía patológica, pero en la práctica se aplica a un contexto en el que se ha incorporado el uso de preparaciones digitales o tecnología de escaneado completo de preparaciones (WSI, de las siglas de Whole Slide Imaging, en inglés) histológicas o citológicas, antes conocida como microscopía virtual. Esta tecnología ha tenido un especial desarrollo en aspectos docentes y en investigación en anatomía patológica y es previsible que lo tenga también en la faceta asistencial.

El conocimiento actual de la tecnología de escaneado de preparaciones o de interoperabilidad o integración entre los diferentes componentes de un sistema de patología digital es aún escaso entre los patólogos y entre los informáticos de las instituciones sanitarias. Además, las instalaciones de los servicios de informática de los hospitales necesitan adaptarse para dimensionar la capacidad de almacenamiento necesario para

las preparaciones digitales y para integrar las nuevas normas de interoperabilidad que están definiendo los organismos internacionales de informática médica.

El objetivo de este capítulo es analizar la situación de la patológica digital en el contexto asistencial, con especial énfasis en el uso de preparaciones digitales y dar unas recomendaciones que permitan a los servicios de anatomía patológica abordar de forma práctica, segura y fiable la digitalización masiva de las preparaciones. En ese sentido, se incluyen algunas medidas que los responsables de la gestión de los centros sanitarios y los legisladores deberían tener en cuenta.

Con un enfoque de “patología basada en pruebas”, este documento recoge las pruebas científicas que hasta el momento existen para valorar las ventajas o las desventajas del uso de la imagen digital microscópica en patología, explica algunos conceptos técnicos básicos que permiten comprender esos estudios científicos, aborda la mejora de los circuitos asistenciales gracias al uso de la patología digital y expone un uso clínico recomendable de la patología digital en el diagnóstico primario, en los comités de tumores, en las consultas entre patólogos, en la patología molecular y en el análisis automatizado de imagen. Por último, se realiza una evaluación de riesgos y una exposición de opciones y decisiones que deben tomarse antes de comenzar un proyecto de digitalización masiva de preparaciones.

Hasta la fecha, existen algunas experiencias aisladas de digitalización masiva de preparaciones en servicios de anatomía patológica, pero esta digitalización se realiza a menudo después del diagnóstico con un microscopio convencional. Incluso, aunque la preparación digital está disponible, en muchos casos los patólogos siguen prefiriendo utilizar el microscopio. El número de patólogos que realizan diagnóstico directo en preparaciones digitales (“diagnóstico primario”) es aún escaso, pero poco a poco se va extendiendo gracias a la experiencia de algunos centros pioneros, que han comenzado a dar este paso [1,2].

Los avances en las nuevas tecnologías correctamente aplicadas a anatomía patológica permitirán solucionar muchos de los retos arriba comentados (mayor demanda asistencial, impulso de la calidad, nuevos modelos de organización), pues el entorno digital permitirá no depender de algunos factores que ahora pueden limitar el crecimiento de la especialidad, como la falta de automatización de muchos procesos o la dependencia de espacios o estructuras físicas para organizar el almacenamiento de las muestras.

II. ASPECTOS TÉCNICOS

Tradicionalmente los sistemas de patología digital y telepatología se han clasificado en tres variantes:

- Estática: con grabación de las imágenes y envío a distancia de las mismas
- Dinámica: con envío de video en tiempo real asociado o no a microscopía robótica.
- Preparaciones digitales o tecnología de escaneado completo de las preparaciones microscópicas o WSI, que combina en cierta manera las dos anteriores [3].

La forma más habitual de telepatología estática es la obtención de fotografías microscópicas y su envío por e-mail y está al alcance de cualquier servicio de anatomía patológica pues no requiere infraestructura específica. Las cámaras fotográficas digitales actuales permiten obtener imágenes de alta resolución con valor diagnóstico.

La telepatología dinámica o transmisión de video en tiempo real ha evolucionado al incorporar sistemas de video digital de alta resolución (HD) que requieren una infraestructura más elaborada con capturadoras de video y un software adaptado para la emisión y recepción de las imágenes. Es posible configurar estos sistemas de manera que un patólogo, a distancia, pueda manejar el microscopio (microscopía robótica) si en el lugar de origen no hay ningún patólogo que pueda hacerlo.

En la actualidad la tecnología que predomina en patología digital es la de escaneado completo a alta resolución de preparaciones microscópicas (WSI) [4]. Se obtienen ficheros digitales de gran tamaño habitualmente por encima de 1 GB para preparaciones escaneadas a 400x, en diferentes tipos de formatos de imagen, que pueden visualizarse de manera local en el propio hospital o de forma remota a través de Internet, con el uso de visores de estos formatos gráficos.

Antes de valorar las características técnicas de un sistema de patología digital, debemos valorar el objetivo

que debe cumplir el sistema. Si el sistema tiene como objetivo dar apoyo a la investigación en cáncer, deberá cumplir una serie de requisitos, como el escaneado de preparaciones de fluorescencia a muy alta resolución. En esta guía, nos centramos en el escaneado masivo de preparaciones digitales con fines asistenciales, para la práctica clínica diaria, para lo cual las recomendaciones técnicas las clasificamos en características esenciales, ideales y opcionales.

COMPONENTES DE UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL

Los principales componentes de un sistema de escaneado completo de preparaciones digitales son tres: el escáner, el software de gestión y visualización de imagen y el almacenamiento de las imágenes. Siguiendo la descripción de la *Food and Drug Administration* (FDA) [5], un sistema de patología digital debe ir acompañado de la siguiente información técnica en adquisición y visualización de imagen:

- **Adquisición de imagen.** A partir de una preparación convencional se obtiene un fichero de imagen digital.
 - Alimentador de preparaciones. Puede ser independiente del escáner. Debe describirse el número, tamaño y grosor (cuidado con preparaciones con doble porta) de las preparaciones que admite, e indicar si la preparación siempre se mantiene horizontal.
 - Fuente de luz. Debe indicar tipo de lámpara (halógena, arco xenón, led), modelo y tiempo de vida estimado.
 - Condensador. Formato de iluminación (Köler, crítica), modelo, apertura numérica (NA).
 - Óptica. Describir toda la vía óptica, incluyendo objetivos (fabricante, tipo, aumento, apertura numérica) y lentes accesorias (tipo). Aumento final, según ISO 8039:1997.
 - Movimiento de preparación o de objetivos. Describir la platina (fabricante, modelo, mecanismo de retención de preparación), sus movimientos (resolución X-Y-Z, control de movimientos)
 - Sensor de imagen digital. Tipo de sensor (CCD; CMOS), fabricante, dimensiones en píxeles, diseño, especificaciones de respuesta y ruido, tasa de lectura (píxeles o "frames" por segundo)
 - Procesamiento de imagen. Exposición, balance de blancos, corrección de color, submuestreo y cualquier otro cambio que se produzca en la imagen original.
 - Composición de la preparación digital. Indicar método de escaneado (lineal, fotogramas, con o sin superposición entre fotogramas, etc.), velocidad de escaneado para cada aumento y por área de tejido y escaneado en eje Z.
 - Formato de fichero de imagen. Indicar método y grado de compresión, formato de fichero, organización del/los fichero/s (piramidal, carpeta con diversos ficheros), compatibilidad con DICOM.
- **Visualización de la imagen.** A partir de un fichero de imagen digital se emiten señales ópticas que recibe el usuario.
 - Visor. Software de manipulación y revisión de imagen
 - Movimiento continuo en los ejes X e Y. Almacenamiento previo ("pre-fetching") de áreas adyacentes para mejorar el movimiento.
 - Zoom continuo (aumentos)
 - Movimiento en el eje Z (múltiples planos)
 - Comparar varias preparaciones a la vez en múltiples ventanas
 - Realizar anotaciones o marcas de áreas de interés y revisarlas
 - Herramientas básicas de mejora de imagen (enfoque, color, balance de blancos, filtros, histograma).
 - Visualizar áreas ya revisadas y a qué aumentos.
 - Sincronizar múltiples visores ("multicabecal virtual")
 - Entorno del ordenador. Describir el tipo de ordenador de la estación de trabajo del patólogo y sus prestaciones, incluyendo:
 - Tipo de ordenador (PC o Mac)
 - Sistema operativo, preferiblemente 64 bit (Win8.1, OSX, Linux/Ubuntu)

- Tarjeta gráfica (marca y modelo)
- Controlador de tarjeta gráfica (fabricante, modelo y versión)
- Gestión de color (ICS o WCS)
- Perfil de color (sRGB IEC61966-2.1)
- Interfaz del monitor (DVI o DisplayPort)
- Monitor. Debe incluir una descripción completa de la pantalla, la tarjeta gráfica y el software de control correspondiente. De forma específica:
 - Tecnología de la pantalla (LED, LCD)
 - Tamaño de visualización real
 - En monitores LCD, tipo de retroiluminación
 - Matriz de píxeles, "pitch" (distancia entre puntos) y patrón
 - Técnicas de sub-pixelación o de "color driving"
 - Ancho de banda de vídeo
 - Controles en la pantalla (OSD)
 - Sensores de luz ambiente
 - Tecnología táctil
 - Herramientas de calibración de color y métodos de gestión de color
 - Procedimientos de control de calidad.

Recomendaciones técnicas que debe cumplir un sistema de patología digital

Arquitectura

El sistema de patología digital debe ser un sistema integrado con el resto de los sistemas de información. Para conseguir una integración ideal es necesario que cada uno de los tres componentes del sistema de patología digital (escáner, visor y almacenamiento) pueda comunicarse con los demás sistemas usando normas internacionales. En este sentido hay que distinguir entre la **fase de trabajo interno**, que puede estar basada en soluciones cerradas o propietarias, pensadas para optimizar los tiempos de respuesta y disponer de un gran número de funcionalidades y la **fase de comunicación de resultados**, en la que tanto las imágenes como los datos deben estar almacenados en formatos estándar y deben estar accesibles desde diversas aplicaciones, y en la cual deben realizarse todos los esfuerzos posibles de normalización.

Características esenciales: La arquitectura del sistema (cliente-servidor, web, u orientación a servicios) debe estar orientada a facilitar y optimizar el trabajo del patólogo (fase de trabajo interna), facilitando el trabajo multipuesto (se accede a la información desde cualquier estación de trabajo) y debe garantizar el rendimiento de todo el sistema (ancho de banda para transmitir la imagen, respuesta de la base de datos ante múltiples peticiones y capacidad de procesamiento local del ordenador). El tiempo de respuesta del sistema debe ser adecuado para no interrumpir el ritmo de trabajo normal del usuario [6].

Características ideales: El sistema de patología digital puede estar constituido por módulos (llamados "servicios" en informática), que se pueden comunicar con otros sistemas, usando las normas internacionales de informática médica.

Integración con otros sistemas de información

Características esenciales: Los sistemas de patología digital deben estar diseñados para integrarse con el SIAP. El protocolo de comunicación debe basarse en HL7

Características ideales: El sistema de patología digital debe integrarse con la historia clínica electrónica y con el sistema central de almacenamiento de imágenes médicas del hospital (PACS, de las siglas del inglés Picture Archiving and Communication System). De esta forma, desde la historia clínica es posible acceder a las preparaciones digitales, ya sea mediante enlaces en la lista de estudios de estudios anatomopatológicos disponibles de cada paciente (de forma similar al acceso a las imágenes radiológicas) o a través de enlaces

existentes dentro de cada informe de anatomía patológica, que se a su vez se almacena en la historia clínica del paciente. Las normas que debe cumplir el sistema son:

- Integrating Healthcare Enterprise (IHE) Anatomic Pathology Technical Framework (http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic)
- Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM). Supplement 122: Specimen Module and Revised Pathology SOP Classes (ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup122_ft2.pdf)
- Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) Supplement 145: Whole Slide Microscopic Image IOD and SOP Classes (ftp://medical.nema.org/medical/dicom/final/sup145_ft.pdf)

Características opcionales: Los informes y las imágenes de anatomía patológica deben poder enviarse automáticamente a los sistemas informáticos de registros de tumores y de biobancos, o a otras bases de datos de utilidad pública, siguiendo las recomendaciones de IHE:

- IHE Anatomic Pathology Technical Framework Supplement. Anatomic Pathology Reporting to Public Health (ARPH) (http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic)

El informe estructurado de anatomía patológica

Características esenciales: Los informes de anatomía patológica deben poder completarse de forma sencilla y estructurada usando valores prefijados para todas o la mayor parte de las variables. Además, deben permitir insertar un enlace a una o un grupo de preparaciones digitales, correspondientes al mismo informe.

Características ideales: Los informes de anatomía patológica deben seguir la estructura normalizada de documento clínico de HL7 (CDA), recomendada por IHE:

- IHE Anatomic Pathology Technical Framework Supplement. Anatomic Pathology Structured Reports (APSR) (http://www.ihe.net/Technical_Frameworks/#anatomic)

Almacenamiento

Características esenciales: La capacidad de almacenamiento de datos o imágenes de pacientes y muestras debe ser suficiente para evitar su pérdida (**obligación de custodia de la historia clínica**) y debe estar disponible durante al menos 5 años desde la última visita o proceso asistencial de cada paciente, según indica la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Características ideales: Si el almacenamiento original supone un desembolso económico importante y no es asumible, la Ley 41/2002, al referirse a la forma de conservación de las historias clínicas, reconoce la posibilidad de mantenerla en un soporte distinto al original, poniendo de manifiesto la necesidad de implementar las medidas de seguridad exigibles para los ficheros de datos de carácter personal, remitiéndose a la regulación de protección de datos. Lo ideal sería poder almacenar al menos 30 años las imágenes de anatomía patológica.

Formato de imagen

Características esenciales: El escáner debe permitir generar formatos de fichero de uso universal, como TIFF o JPEG2000.

Características ideales: El sistema debe ser capaz de enviar las imágenes al PACS del hospital usando dos normas internacionales DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) específicas para las imágenes de anatomía patológica: el suplemento 122 y el suplemento 145, arriba indicados.

Visor de preparaciones digitales

Características esenciales: El visor de preparaciones del puesto de trabajo del patólogo debe ser rápido y con todas las funcionalidades básicas y avanzadas, incluyendo la integración con el sistema de análisis de imagen. El visor de preparaciones digitales que vaya a utilizarse fuera del puesto habitual de trabajo del patólogo y que utilicen otras especialidades, debería ser un visor web, que no requiera instalación previa y debe permitir mostrar imágenes en diferentes formatos de imagen.

Características ideales: El visor de preparaciones digitales debe ser capaz mostrar indistintamente preparaciones digitales, fotografías en color o imágenes radiológicas almacenadas en el PACS hospitalario.

Seguridad

Características esenciales: Se realizarán copias de seguridad de todas las preparaciones digitalizadas, aunque sea en soportes más lentos o económicamente más asequibles. El sistema de patología digital estará sometido a la misma política de seguridad y protección antivirus que el resto de los sistemas de información corporativos del hospital.

Características ideales: Se realizarán automáticamente copias de seguridad diarias, que no enlentecerán el funcionamiento óptimo del sistema, y al menos una copia estarán disponible en un lugar seguro, físicamente distinto al hospital donde originalmente se escanearon las preparaciones.

Privacidad y control de accesos

Características esenciales: El sistema debe reconocer usuarios internos (patólogos, TEAP) y usuarios externos (otros médicos especialistas, patólogos de otros centros), ofreciendo diversas funcionalidades a cada uno. La identificación podrá realizarse mediante usuario y contraseña. La contraseña de cada usuario debe poder gestionarse automáticamente, obligando a su renovación una vez al año.

Características ideales: El acceso debe garantizarse mediante el mismo sistema seguro (uso de certificados digitales o tarjetas inteligentes) que permita el acceso a otras aplicaciones clínicas. La base de datos de usuarios debe estar integrada con el sistema de información hospitalario.

Características opcionales: El administrador clínico debe poder acceder a los registros de accesos (auditoría).

Actualización

Características esenciales: El fabricante debe informar cada vez que esté disponible una nueva versión con cambios significativos de cada uno de los módulos funcionales del sistema y de sus dependencias (si el cambio de un módulo con lleva el cambio de otros).

Características ideales: El fabricante debe acordar con el servicio de anatomía patológica el procedimiento de notificación de la aparición de una nueva versión, las condiciones económicas que rigen la actualización de versiones, el procedimiento que se debe seguir durante dicha actualización, el tiempo aproximado de actualización, el impacto sobre el funcionamiento del sistema y la formación que precisan los usuarios [6].

Características opcionales: El producto debe tener una frecuencia de actualización de versiones mayores de al menos una cada 2 años y que el usuario debe poder conocer con la suficiente anticipación los planes de mejora y nuevas funcionalidades del fabricante [6].

Mantenimiento

Características esenciales: Todos los equipos de patología digital, independientemente de la forma de financiación para su adquisición, deben contar con un contrato de mantenimiento. El contrato debe indicar el horario de asistencia técnica y el tiempo de respuesta según el tipo de incidencia (crítica o leve), para evitar la parada del sistema. Además, el hospital debe garantizar que el hardware disponible en clientes y servidores, y la capacidad de red (o ancho de banda) son suficientes para asegurar un funcionamiento correcto del sistema [6].

Características ideales: El contrato de mantenimiento debe garantizar el funcionamiento continuo y si no es posible la reparación en pocas horas, el distribuidor debe proporcionar un equipo de sustitución. Cada servicio de anatomía patológica debe disponer de al menos dos escáneres de preparaciones digitales. El sistema debe avisar de funcionamientos anómalos (falta de calibración de colon o del sistema óptico) y de la necesidad de realizar labores de mantenimiento.

Características opcionales: El fabricante proporcionará asesoría continuada al servicio de informática y al administrador clínico del sistema [6].

FUNCIONALIDADES IMPRESCINDIBLES EN UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL

Las siguientes funcionalidades son consideradas básicas, antes de plantearse el abandono del uso de microscopio convencional.

1.- Velocidad de escaneado

Este es el factor donde se aprecia una evolución más rápida en los equipos de patología digital. Los equipos de última generación ya se acercan a la barrera de 1 minuto en tiempo de escaneado completo con alta resolución. Cuando un servicio de anatomía patológica se plantea la digitalización de sus preparaciones, debe conocer el tiempo total de escaneado para poder establecer el número de escáneres que necesitará. En la valoración del tiempo de escaneado debe considerarse que no solo contabiliza el tiempo de captura de las imágenes sino que suele haber un tiempo que utiliza escáner en la calibración o enfoque de la muestra que puede ser previo o simultáneo a la captura y que con frecuencia puede variar si se ajusta un foco de mayor sensibilidad. Adicionalmente, tras el procedimiento de captura de imágenes, el escáner puede necesitar un tiempo de ensamblaje de las mismas y generación del fichero digital, para que quede disponible para su visualización.

El tiempo de escaneado es también un factor crítico si se planea su utilización en realización de estudios intraoperatorios [7].

El escáner debe disponer de un alimentador de preparaciones de al menos 100 preparaciones (algunos sistemas admiten hasta 400 preparaciones) y lo ideal es que el sistema permita carga continua de preparaciones y permita ajustar la prioridad de cada una de las preparaciones.

La velocidad total de escaneado no debe ser superior a 2 minutos para escanear un área de $1,5 \times 1,5$ cm usando una resolución de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) [8].

2.- Calidad de imagen obtenida por el escáner

En la actualidad prácticamente la totalidad de fabricantes de escáneres de preparaciones microscópicas obtienen imágenes de elevada calidad. Se trata de dispositivos de elevado precio que utilizan componentes de alta calidad. La obtención de imágenes digitales se realiza empleando objetivos similares a los de los microscopios ópticos pero casi siempre se seleccionan los de gama más alta y mejores prestaciones ópticas. Ello se combina con cámaras digitales con sensores de alta resolución. La combinación de sistema óptico (objetivos y otras lentes) y captura digital (cámaras que capturan fotogramas, líneas o áreas), hoy día, deben cumplir con al menos los siguientes requisitos técnicos:

La resolución espacial debe medirse en micrómetros por píxel y no en aumentos. El valor mínimo recomendable es de 0,5 micrómetros/píxel (equivalente a objetivo 20x) para diagnóstico histopatológico [9] y 0,25 micrómetros/píxel (equivalente a 40x) para diagnóstico citopatológico.

El porcentaje de preparaciones que necesitan ser reescaneadas (por pliegues en el tejido, tejido débilmente teñido, etc.) no debe ser superior al 5 %, aunque esta cifra también está directamente relacionada con la calidad de la técnica histológica de cada centro. Se recomienda usar sistemas de tinción y montaje automático de preparaciones histológicas y citológicas.

El escaneado de citologías es más complicado. En general, pueden ser escaneadas de forma adecuada con parámetros similares a los usados en histopatología, si los frotis no son muy gruesos (por ejemplo, mediante citología líquida), aunque el porcentaje de reescaneado puede acercarse al 10% (ver escaneado en el eje Z en funcionalidades opcionales).

La compresión de la imagen obtenida no debe ser superior a 70% si se utiliza compresión con los métodos JPEG o JPEG2000. El método JPEG2000 de compresión permite obtener mejor calidad de imagen y un tamaño de fichero más reducido, aunque requiere mayor tiempo de compresión o disponer de ordenadores de mayores prestaciones.

3.- Calidad del monitor en la visualización de preparaciones digitales.

Al margen de la calidad de imagen obtenida por el escáner es imprescindible contar con un buen sistema de visualización de la imagen (habitualmente un monitor o pantalla de ordenador). La percepción

subjetiva de la calidad de imagen depende casi siempre en mayor medida de este factor, que del sistema de obtención de imagen por parte del escáner. Es importante tener en cuenta que las pantallas convencionales que acompañan a los ordenadores de uso doméstico, en general, no son adecuadas para patología digital, aunque en los últimos años han aparecido monitores para uso doméstico con una calidad muy aceptable y a un precio asequible. Como referencia en cuanto a resolución un monitor de 2K (1920x1080 píxeles) debe ser lo mínimo exigible. El tamaño mínimo recomendable de la pantalla puede estar en torno a 22 pulgadas, aunque pueden ser necesarios tamaños mayores si en la misma pantalla se quiere mostrar a la vez el visor de las preparaciones digitales y el SIAP. Además de la resolución y el tamaño de visualización, otros criterios que definen la calidad de un monitor son: el tamaño del punto (dot pitch) que mide la distancia que separa dos puntos del mismo color y da idea de la nitidez de imagen. Suele medir en torno a 0,28 mm y cuanto más pequeño sea este valor más nitidez obtendremos. También definen la calidad de un monitor sus características de contraste y luminosidad. Los valores de contraste que ofrecen los fabricantes de monitores en ocasiones se refieren a contraste real (diferencia entre un píxel negro y otro blanco en un único instante, con cifras alrededor de 800:1, 1000:1, 1600:1...), y en ocasiones a contraste dinámico (que mide lo que varía un píxel de negro a blanco en un período de tiempo con cifras en estos rangos 20000:1, 50000:1, 100.000:1). El primer parámetro valora mejor las imágenes fijas y el segundo las imágenes en movimiento [10]. La luminosidad se mide en candelas por metro cuadrado con valores en torno a 250 a 300 cdm².

Los monitores de calidad médica con una resolución entre 4 a 6 megapíxeles y 30 pulgadas de tamaño, a pesar de su elevado precio, están teniendo gran aceptación en anatomía patológica, debido a que garantizan unas condiciones de trabajo ergonómicas (frecuencia de refresco, brillo uniforme, adaptación a luz ambiente), imprescindibles para trabajar durante horas de forma ininterrumpida delante del ordenador. También se están haciendo populares los llamados monitores 4K (resolución de 4.096 x 2.160 píxeles, hasta 8,8 millones de píxeles), incluso con tecnología táctil. Conviene recordar que si aumenta significativamente la resolución del monitor, veremos los objetos significativamente más pequeños incluso aunque apliquemos el máximo zoom o aumento del visor [10].

4.- Velocidad de visualización o lectura de las preparaciones digitales

Para el trabajo de rutina no son admisibles tiempos de espera en la transición de imágenes o en los cambios de aumento de un sistema digital. Un trabajo fluido requiere una velocidad de refresco de imágenes en la que las transiciones sean imperceptibles. Este es un factor que depende del método de composición de la imagen (la transición de enfoque gradual es más agradable que la composición de fragmentos o cuadrados en la imagen), de la capacidad del ordenador que actúa como estación de trabajo y de las líneas de comunicaciones. Habitualmente, las preparaciones digitales no se almacenan en el mismo ordenador en el que trabaja el patólogo, sino que se transmiten desde un servidor central que suele estar ubicado en el servicio de informática. Son los servicios de Informática del hospital los que deben garantizar que las líneas de comunicaciones tengan un ancho de banda suficiente para este uso.

FUNCIONALIDADES OPCIONALES DE UN SISTEMA DE PATOLOGÍA DIGITAL

Diversos elementos adicionales deben ser valorados a la hora de implantar un sistema de patología digital:

1.- Escaneado en eje Z (obtención de diferentes niveles de foco de una preparación)

Los sistemas de enfoque automatizados son uno de los elementos más sofisticados en los escáneres de preparaciones digitales. Aunque, en general, los cortes de muestras biópsicas obtenidos a 3-4 micras pueden digitalizarse en un único plano, esto no es aplicable a todos los tipos de muestras que se manejan en los servicios de anatomía patológica. Dado que el índice de reescaneados es mayor en citología y puede ser superior al 10%, esto conlleva la necesidad de escanear múltiples planos, pues las citologías convencionales tanto exfoliativas (cervicovaginales) como punciones (PAAF) suelen tener agregados celulares tridimensionales que son imposibles de valorar en una preparación digital escaneada en un plano único [11]. Algunos escáneres permiten seleccionar el número de planos de escaneado e incluso la separación entre

cada plano (0,5, 1, 2... micras). Esta solución técnica debe usarse con precaución dado que el escaneado en múltiples planos es más lento y genera ficheros digitales mucho mayores en función del número de niveles escaneados. Así, actualmente no resultaría eficiente un escaneado en múltiples planos de todas las citologías cervicovaginales si fuéramos a obtener ficheros superiores a 5 GB por cada preparación. Algunos escáneres incluyen una opción de foco dinámico o mejorado (que toma el mejor foco de cada plano y lo muestra en un solo plano), que optimiza este proceso.

En determinados tipos de biopsias por ejemplo biopsias renales o biopsias prostáticas (cilindros) en los que la valoración a gran aumento es importante y donde el disponer de varios planos aporta información adicional útil, la disponibilidad técnica de esta opción puede resultar muy valiosa.

2.- Escaneado de preparaciones bajo luz de fluorescencia

Los escáneres de preparaciones microscópicas están diseñados esencialmente para el trabajo con muestras habituales bajo campo claro. Sin embargo, la posibilidad de escanear preparaciones de fluorescencia (inmunofluorescencia directa, FISH, etc.) tiene especial valor dado que estas preparaciones tienden a degradarse por lo que no pueden conservarse de manera indefinida, mientras que un fichero digital obtenido de un escáner con fluorescencia permite mantener estas preparaciones digitales de forma indefinida. Esta función, aunque muy útil para estos casos, ha de valorarse teniendo en cuenta que suelen requerir un tiempo de escaneado mayor y encarece el precio de los escáneres.

3.- Capacidad de exportación y flexibilidad del software y del tipo de ficheros digitales.

En la actualidad no existe un sistema normalizado en la generación de ficheros digitales de preparaciones microscópicas. Coexisten múltiples tipos de ficheros dependiendo del fabricante del escáner. Aunque la iniciativa DICOM trabaja para intentar avances en cuanto a normalización en el almacenamiento, de momento ningún fabricante ofrece una solución basada en DICOM. Es por ello importante valorar a la hora de implantar un sistema de patología digital el tipo de ficheros que se utilizarán. Algunos fabricantes emplean ficheros propios incompatibles con otros sistemas y con dificultades para su exportación a ficheros más estandarizados. Resulta útil disponer de un sistema de ficheros que pueda exportarse a alguno de los formatos digitales más empleados (JPEG2000, TIFF). Por otra parte la posibilidad de exportar nuestras preparaciones digitales a un sistema convencional facilita enormemente su utilización en entornos web y el empleo de alternativas de software abierto o gratuito [12-16].

III. TRAZABILIDAD Y PATOLOGÍA DIGITAL

La Organización Internacional para la Estandarización (ISO) define la trazabilidad como "la capacidad para seguir la historia, la aplicación o la localización de todo aquello que este bajo consideración" [17].

En anatomía patológica, al hablar de trazabilidad, nos referimos a la capacidad de conocer la ubicación y estado de una muestra y sus derivados dentro del flujo de trabajo de todo el servicio.

Cuando nos enfocamos en la patología digital, al igual que en el resto de los procesos por los que pasa una muestra, debemos ser capaces de saber en qué momento la muestra ha llegado al/los proceso/s de digitalización y cuál fue el resultado del mismo.

En el caso de la digitalización de la imagen macroscópica, este proceso puede realizar mediante la lectura del código de barras o bidimensional que posee el recipiente en el que viene la muestra y luego, una vez tomada la imagen se deberá confirmar al sistema de trazabilidad si el proceso se ha realizado correctamente o si ha habido algún error.

Luego, en el momento de digitalizar la imagen microscópica se deberán cumplir los mismos pasos, es decir, la lectura del código de barras o bidimensional presente en el portaobjetos y la confirmación del resultado del proceso.

Si solo estamos digitalizando un número reducido de preparaciones o laminillas y/o imágenes macroscópicas, este proceso puede realizarse de forma manual leyendo el código a la hora de recibir la muestra en

la estación de fotos macro o digitalización de preparaciones y luego validando la correcta culminación del proceso en el SIAP o sistema de trazabilidad que estemos utilizando.

Si el número de preparaciones que se digitalizan al día es muy elevado, este proceso puede automatizarse mediante la integración del sistema de gestión de imágenes y el SIAP. De esta forma, al finalizar el proceso de digitalización ya sea de imágenes macro o micro, el sistema de gestión de imágenes informará al SIAP del resultado de dicho proceso y la ubicación de la imagen digital creada.

TRAZABILIDAD Y FLUJO DE TRABAJO

La digitalización integral de un servicio de anatomía patológica implica la integración del sistema de digitalización en el SIAP y el establecimiento de un sistema de trazabilidad. Esto permite una mejor utilización de los recursos y un mayor control de las muestras y las preparaciones.

Para ello, es necesario establecer un flujo de trabajo que empieza con la llegada de la muestra. En el momento de la entrada al servicio de anatomía patológica, la muestra se registra en el SIAP y se imprimen etiquetas con un código uni- o bidimensional del bote que contiene el tejido y a su vez de la hoja de petición de estudio anatomopatológico correspondiente. Mediante este código asignado a cada muestra podremos saber en todo momento dónde se encuentra y en qué fase de procesamiento o diagnóstico está dicha muestra.

La muestra de tejido, correctamente etiquetada en el envase, se lleva de la recepción a la sala de tallado. En el caso de tratarse de una pieza quirúrgica con una macroscopía de interés, se realiza una fotografía macroscópica. La integración del sistema de digitalización macroscópica al sistema de trazabilidad nos permite integrar la foto macroscópica al SIAP automáticamente. Para ello, la cámara lleva asociado un software para marcado de la muestra y un lector de código de barras (el cual puede estar integrado o no dentro del sistema de macrofotografía) de forma que, al realizar la foto, se lee el código uni- o bidimensional con el lector y la foto queda registrada automáticamente en el SIAP.

Seguidamente, la muestra será procesada en la sala de tallado. Después de realizar la disección macroscópica, la muestra es depositada en un casete previamente identificado con el código bidimensional (los códigos de barras unidimensionales no son recomendables dado el pequeño tamaño de la superficie imprimible). Cada casete se valida en el SIAP al pasar el código correspondiente por la estación de lectura o verificación de casetes, en la cual es recomendable añadir un paso de verificación que consisten en leer primero el código uni- o bidimensional del envase con la muestra y posteriormente leer los códigos de los casetes, para comprobar que pertenecen a la misma muestra (punto de control 1). Posteriormente, los casetes se procesan y se procede a la estación de parafinado de la muestra (en la cual debe existir un punto de verificación, punto de control 2) y posteriormente, realizar los cortes en la estación de microtomía (que también debe incluir otro punto de verificación, punto de control 3).

A continuación, se lleva a cabo el proceso de tinción de las preparaciones histológicas. Si el teñidor automático está integrado con el SIAP, éste recibe automáticamente la información sobre la tinción, e incluso el montaje, realizados (punto de control 4). Una vez teñidas, las muestras se cargan en el escáner digital que escanea cada uno de los cortes y los registra automáticamente en el SIAP (punto de control 5).

El patólogo tiene acceso a la muestra desde cualquier lugar con conexión a la red de comunicaciones y los permisos correspondientes para entrar en el sistema. En el SIAP, podremos ver un listado con todos los casos que tenemos realizada la macroscopía (punto de control 1), procesados (punto de control 2), con microtomía realizada (punto de control 2), teñidos (punto de control 4) y escaneados (punto de control 5).

En la pantalla de trabajo, tras entrar en el caso a estudiar, existe un enlace mediante el cual se accede directamente a las imágenes escaneadas, mediante la conexión con el visualizador de imágenes.

Las imágenes escaneadas quedan almacenadas digitalmente para poder consultarse en revisiones posteriores y para su utilización en la docencia y/o investigación. En caso que no se disponga de espacio de almacenamiento suficiente, cada servicio puede decidir cuáles serán los escaneados que quiere conservar y cuáles se pueden eliminar (ver "Evaluación de riesgos y aspectos éticos. Normativa").

IV. PATOLOGÍA DIGITAL EN EL DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DE RUTINA

EVIDENCIAS EXISTENTES SOBRE LA FIABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO DIGITAL EN PATOLOGÍA

La implementación de la microscopía basada en el escaneado completo de preparaciones (WSI) en el diagnóstico rutinario ha sido cuestionada por algunos autores debido a que consideran como limitadas las evidencias sobre su fiabilidad diagnóstica. El principal problema aducido es el número relativamente escaso de publicaciones que demuestren su utilidad. Otro problema añadido de las publicaciones sobre WSI es que muchos de los estudios presentan algunas deficiencias en su diseño, como estar limitados a muestras o especialidades concretas, no incluir un periodo suficientemente largo de separación entre la visualización de preparaciones con WSI y con microscopía convencional (MC) o no evaluar la concordancia intraobservador.

Recientemente, la *American Telemedicine Association* y el *College of American Pathologists* han realizado una revisión de los 112 artículos publicados en los que se ha utilizado una metodología adecuada, entre 767 publicaciones totales existentes sobre el tema [18,19]. En dicha revisión se ha puesto de manifiesto que el nivel de concordancia en los distintos estudios varía entre el 73% y el 98%, y que las discrepancias mayores representan entre el 3% y el 7%. Estas variaciones dependen en gran parte de las características del estudio y, de forma particular, de si la concordancia medida es intra- o interobservador [20]. La revisión concluye que la concordancia entre WSI y MC, aunque no es del 100%, es adecuada. De hecho, numerosos estudios han demostrado que la concordancia intraobservador cuando se emplea solo la MC tampoco es completa y depende de factores como la dificultad del caso o la información clínica disponible.

RECOMENDACIONES PARA LA VALIDACIÓN DE LA MICROSCOPÍA VIRTUAL

De acuerdo con los resultados de esta revisión, la *American Telemedicine Association* y el *College of American Pathologists* han publicado unas guías sobre los requisitos necesarios para una correcta implementación de la WSI. En ellas se establece una clasificación de pruebas científicas (grado A si son óptimas; grado B son pruebas científicas buenas; grado C sin los resultados no son concluyentes; y opinión de expertos, como grado de certeza más bajo) y concluyen como recomendación principal que debe realizarse una validación interna en cada centro en el que se vaya a introducirse la WSI en el diagnóstico rutinario, aunque reconocen que esta recomendación no se basa en pruebas científicas sino en la opinión del grupo de expertos que elaboran estas guías [18,19]. El objetivo de esta validación es demostrar que la WSI es igual de efectiva para el diagnóstico de rutina que la MC [2,20,21]. Las recomendaciones de estas guías para la validación interna de la WSI son las siguientes [18,19]:

- La validación debería simular la práctica real del centro y abarcar el número suficiente de casos de cada tipo (intraoperatorias, preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, inmunohistoquímica) para que pueda considerarse un adecuado reflejo del espectro y la complejidad de las muestras y diagnósticos que se llevan a cabo en el centro (grado A de pruebas científicas). Sin embargo, no es necesario incluir todos los órganos ni especialidades, pues los resultados pueden extrapolarse a especialidades y muestras con características similares, con excepción de algunas como la dermatopatología, la hematopatología y la citología. En algunos estudios sugieren que son necesarios un mínimo de 60 casos de cada tipo de muestras (con 60 casos se alcanza una precisión aproximada del 90% y una concordancia del 95%, y con 200 casos una precisión del 100% y una concordancia del 91%).
- Debería medirse la concordancia intraobservador (grado C de pruebas científicas) con un periodo de separación o "limpieza" entre las evaluaciones con WSI y MC de al menos dos semanas (grado B de pruebas científicas).
- El orden de evaluación de la MC y la WSI puede ser aleatorio, puesto que no parece influir en el resultado final (grado A de pruebas científicas).
- La validación debería abarcar todos los componentes del sistema implicados en la WSI. No es necesario evaluar cada componente por separado (grado B de pruebas científicas). En caso de que se realice alguna variación importante en un componente sería necesario volver a evaluar todo el sistema en conjunto (opinión de expertos).

- Es preciso comprobar que todas las preparaciones han sido correctamente digitalizadas y que la totalidad del material de éstas se encuentra en la imagen generada (opinión de expertos). La mayoría de los sistemas actuales permiten comprobarlo directamente, al incluir una imagen en miniatura de cada preparación
- Se debería comprobar que las imágenes enviadas por el escáner son iguales a las recibidas por el patólogo, presentando especial atención si han sido comprimidas empleando sistemas de compresión irreversible. Del mismo modo que para el caso anterior, la mayoría de los sistemas actuales permiten comprobarlo
- Se recomienda que un patólogo entrenado en el uso de la WSI esté involucrado en el proceso (grado B de pruebas científicas).
- La validación debería incluir a todo el personal involucrado en la digitalización (facultativos, personal técnico y de gestión)
- La validación debería de llevarse a cabo según los estándares más actualizados, incluyendo los métodos, medidas y evaluaciones del sistema
- El documento generado de la validación interna debería ser conservado por si es necesario efectuar comprobaciones con posterioridad (opinión de expertos)

No obstante, es preciso reseñar que estas recomendaciones son ideales pero muy difíciles de llevar a cabo en la práctica diaria. Pueden resultar poco realistas en muchos centros, dada la necesidad de dedicar para su puesta en práctica una gran cantidad de recursos y de tiempo. Teniendo en cuenta que existen suficientes evidencias en la literatura que demuestran que el diagnóstico con WSI es comparable al de la MC, se considera como correcto realizar validaciones menos estrictas e incluso, podría considerarse la adopción de un sistema de patología digital previamente validado por otros centros, sin necesidad de validación *in situ*. Si es conveniente tener en cuenta la necesidad de un periodo de adaptación de cada patólogo a la visualización y diagnóstico de las imágenes histológicas en un monitor de ordenador. Puede resultar prudente en este sentido mantener durante un periodo de tiempo activa la MC con el objeto de permitir la reevaluación de los casos con dudas. De hecho, la introducción de la WSI no va a representar con absoluta certeza la sustitución total de los microscopios convencionales.

RECOMENDACIONES PRÁCTICAS PARA EL ESCANEADO EN EL DIAGNÓSTICO DIGITAL DE RUTINA

En la mayoría de las patologías el escaneado con un objetivo de 20x parece ser suficiente para un diagnóstico correcto, aunque algunos casos o algunas preparaciones específicas dentro de un caso puedan requerir un escaneado a 40x para una mayor precisión de la imagen [1,22,23]. Es posible que algunas patologías como la biopsia renal o hepática o la identificación de microorganismos precisen un escaneado rutinario a mayor aumento (40x). Es importante identificar las patologías, casos o preparaciones que requieren una mayor resolución para evitar escaneados innecesarios a gran aumento dado que pueden cuadruplicar el tamaño del archivo resultante generando importantes problemas de espacio de disco para su almacenamiento.

La introducción de la WSI en el diagnóstico de rutina de un Servicio de Anatomía Patológica implica la adquisición de hábitos digitales por parte de los patólogos y los técnicos. Por ello, cualquier avería del escáner conlleva importantes disfunciones en el servicio. Aunque los escáneres modernos son herramientas robustas y fiables presentan, como cualquier instrumento, averías de forma ocasional. Por ello, se considera recomendable que los servicios que se planteen la digitalización dispongan de un plan de contingencia que especifique qué debe hacerse en caso de fallo del sistema. Para ello, es recomendable disponer al menos de dos escáneres. Ello permite continuar con la actividad en el caso de que se produzcan problemas técnicos con uno de los aparatos.

La digitalización de un servicio de anatomía patológica implica el escaneado de un gran número de preparaciones. Es fundamental elaborar protocolos que identifiquen los casos urgentes para priorizar su digitalización y poder disponer de la imagen histológica en pocos minutos, evitando en la medida de lo posible las distorsiones resultantes de buscar dentro del escáner preparaciones que precisan evaluación urgente.

Es imprescindible la involucración del personal técnico (TEAP) en el proceso de la digitalización. Ello que conlleva la necesidad de un aprendizaje y genera un aumento moderado de la carga asistencial [2,18,19]. Es necesario tener en cuenta estos aspectos a la hora de gestionar el volumen de trabajo del personal técnico y el tiempo dedicado a las distintas tareas. Un representante de los técnicos debería de estar involucrado en el control de calidad de la WSI.

La digitalización de preparaciones de material congelado para el diagnóstico peroperatorio requiere un personal técnico y facultativo muy entrenado en el uso de la WSI para disminuir el tiempo al mínimo. Los estudios disponibles revelan que la precisión en el diagnóstico es la misma que con las muestras parafinadas (sólo un 0,3% de los casos requirieron mirar la preparación de cristal) y el tiempo total requerido varía entre 14 y 20 minutos [20,24,25].

Existen algunas limitaciones de las imágenes digitalizadas, como la imposibilidad de poder ajustar el enfoque sobre distintos planos de la preparación. Esta característica dificulta el diagnóstico con WSI en ciertas especialidades como la citología, por lo que no es del todo recomendable plantear por el momento un proyecto de digitalización de todas las citologías [19], aunque es previsible que pronto dispongamos de una tecnología más adecuada.

Las preparaciones tienen que cumplir unas características de calidad rigurosas para poder ser escaneadas, lo cual permite, de forma indirecta, realizar un control de calidad de las propias preparaciones histológicas [19].

Una vez la WSI ya es utilizada en el diagnóstico de rutina es necesaria la realización de un control de calidad sistemático, que incluya tanto los casos primarios como los de consulta diagnóstica [18,19]. A continuación se detallan las recomendaciones disponibles en las guías sobre el control de calidad:

- Es necesaria la creación de un comité para supervisar el proceso de control de calidad. Éste tiene que estar compuesto por representantes de los facultativos, del personal técnico y de la dirección del servicio.
- Tiene que llevarse a cabo una revisión de forma regular de los cambios en la política sobre el uso de WSI que puedan resultar relevantes
- La documentación sobre el uso del software y hardware, y sobre los procedimientos necesarios para llevar a cabo el diagnóstico empleando WSI deberían de estar escritos
- Debería de articularse un mecanismo para la detección y la resolución de problemas
- Es necesario documentar parámetros de importancia como el tiempo y la concordancia en el diagnóstico de congelados, el porcentaje de casos que requieren una revisión de la preparación de cristal y las razones, y el porcentaje de reescaneados necesarios
- Deberían de ser revisados un 10% de los casos de consultas y diagnósticos primarios, empleando WSI y MC.
- Al igual que ocurre con la validación de la WSI, las recomendaciones de las guías sobre el control de calidad son muy estrictas. Para muchos centros, puntos como la revisión de un 10% de los casos pueden suponer un gasto de tiempo y de recursos excesivo. De hecho, se recomienda la revisión de este mismo porcentaje de preparaciones convencionales para el control de calidad del diagnóstico, pero la aplicación en la práctica de estas recomendaciones es muy baja.

COMITÉ DE TUMORES Y PATOLOGÍA DIGITAL

La patología digital permite compartir imágenes entre distintos facultativos que se encuentran en el mismo o en distintos lugares, requiriendo tan sólo un ordenador y una pantalla. Esta característica resulta muy útil en la realización de comités multidisciplinarios, disminuyendo las barreras entre las distintas especialidades y facilitando la interacción entre patólogos y clínicos [1,19,20]. Otro beneficio de esta tecnología es que disminuye la necesidad de desplazar preparaciones y microscopio, con la subsecuente disminución del riesgo de ruptura o pérdida de las preparaciones, o de posibles daños sobre el microscopio.

Los estudios revelan un impacto positivo sobre el uso de la WSI en la preparación de los casos que se presentan en los comités de tumores, disminuyendo el tiempo entre 30 minutos y una hora semanal (se reducen aproximadamente al 50%). Esto es debido a que no es necesario realizar fotografías previas de los

casos, pues se pueden visualizar en tiempo real y con gran calidad. Además se dispone de la totalidad del material y se pueden hacer anotaciones y mediciones sobre las imágenes [1].

PATOLOGÍA DIGITAL EN CONSULTAS (SEGUNDA OPINIÓN ENTRE PATÓLOGOS)

Una de las aplicaciones más atractivas de la patología digital es el acceso inmediato a segundas opiniones. La aplicación al diagnóstico de la tecnología de preparaciones digitales ya ha demostrado su eficacia en diagnóstico primario [26], en programas de calidad [27] y en interpretación de la expresión de biomarcadores [28].

La teleconsulta mediante preparaciones digitales facilita el acceso a segundas opiniones porque evita la necesidad de transporte de preparaciones. Esta facilidad tiene un doble impacto en la calidad de la asistencia. El más directo es la posibilidad de acceso de cualquier paciente, con independencia de su ubicación geográfica, a la opinión diagnóstica del especialista más cualificado para un caso concreto. En ocasiones, es el paciente quien se traslada de área geográfica para recibir un tratamiento que no está disponible en el centro sanitario de su localidad. En estas circunstancias es frecuente que el centro receptor requiera la evaluación del material en su servicio de patología. Algunos autores han estudiado la frecuencia de discordancias entre el diagnóstico original y el realizado en el centro de referencia [29].

De forma indirecta, pero no con menor importancia, la teleconsulta digital incide también en la calidad de la asistencia al mejorar la formación del patólogo general que tiene la posibilidad de contar con la opinión del experto y comentar los casos que se apartan significativamente de la rutina. La consulta mediante preparaciones digitales tiene además el valor añadido de mejora en la eficiencia no solo por la reducción de costes y tiempo en los envíos. La mejora de la calidad del diagnóstico y de la formación del patólogo general, derivada de la mayor facilidad en la consulta implica un mejor uso de las técnicas complementarias, reduciendo su número y en consecuencia reduciendo costes. Además, al evitar el transporte de material se mejora la seguridad previniendo pérdidas por extravío o rotura de preparaciones [30].

Recomendaciones para un sistema de segunda opinión en patología digital:

El flujo de información de un sistema de teleconsulta en patología debe ser bidireccional. Para su adecuado funcionamiento se recomiendan las siguientes condiciones:

1. Acceso seguro. La teleconsulta mediante preparaciones digitales implica, si el consultor se encuentra fuera de la red institucional del centro que genera la consulta, el acceso seguro al caso y por tanto la posibilidad de que el consultor y solamente el consultor, pueda examinar el caso completo (todas las preparaciones e información clínica relevante), preservando la seguridad de la base de datos. Ante la instalación de un sistema de patología digital el hospital debe planificar entre sus funcionalidades la teleconsulta y habilitar la posibilidad de acceder a los casos que se someten a consulta. Paradójicamente algunos hospitales tienen un buen sistema de patología digital pero las limitaciones de acceso a la red del hospital impiden por completo las consultas. El uso de un acceso tipo red privada virtual (VPN) podría servir, aunque puede resultar un tanto complejo para algunos usuarios. Tiene ventajas en cuanto a seguridad, pero como alternativa el poder disponer de un servidor web tradicional donde pueden moverse los casos de consulta, simplifica enormemente el acceso y su flexibilidad. También es posible habilitar protección con contraseñas en los servidores web.

2. Anotaciones. El sistema debería permitir la inserción de anotaciones en las preparaciones digitales, así como el uso de herramientas de análisis de imagen digital como medio de mejora de la formación de los profesionales que desarrollan su labor en centros generalistas.

3. Registro de informe de segunda opinión. Idealmente, el sistema debería facilitar la inserción de un informe de segunda opinión firmado, ligado al registro del paciente.

IMÁGENES MOLECULARES: DIGITALIZACIÓN DE MUESTRAS DE FISH

Las muestras teñidas con la técnica FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization*) constituyen uno de los casos más específicos y complejos a la hora de digitalizar. Esto se debe principalmente a que se trata de casos de fluorescencia de generalmente 3 o más canales y donde las señales que se desean captar son muy pequeñas

tanto en intensidad como en tamaño. A esto se añade la gran diversidad de sondas de los distintos fabricantes que utilizan diferentes técnicas de marcado en fluorescencia.

Estas características condicionan la tecnología que deberemos utilizar para lograr una imagen con calidad diagnóstica. Las principales características que debe tener el equipo de digitalización son: disponer de un objetivo de al menos 40x (o resolución espacial de al menos 0,25 micras por píxel), disponer de una fuente de iluminación con la potencia y especificidad en longitud de onda de excitación necesarias, disponer de una cámara de bajo ruido y alta eficiencia cuántica y por último es necesario tener la posibilidad de escanear en modo "Z-Stack", es decir, tener la posibilidad de navegar por distintos planos focales en la imagen digital.

Por otro lado, son estas características las que hacen que el proceso de digitalización de este tipo de muestras sea un procedimiento que no puede automatizarse y que requerirá la interacción de un usuario experto ya que a la hora de escanear, deberán ajustarse manualmente los tiempos de exposición y ganancia digital de cada canal y el modo "Z-Stack" deberá ajustarse al espesor de corte de la muestra.

Una vez obtenida la imagen digital, generalmente será necesario realizar algunos ajustes en los parámetros de brillo, contraste y saturación de los distintos canales para lograr resaltar la fluorescencia específica de la de fondo.

V. ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE IMAGEN FRENTE A CUANTIFICACIÓN MANUAL EN BIOMARCADORES ONCOLÓGICOS

Uno de los principales retos que se nos presenta en la patología del siglo XXI es la patología del cáncer; el diagnóstico, el pronóstico mediante la determinación de biomarcadores y la consecuente terapia oncológica dirigida en el seno de la medicina personalizada requieren procesos que a cada paso generan más información, que a cada paso requieren más precisión. Esta calidad en el manejo diagnóstico, pronóstico y terapéutico de los enfermos de cáncer solo se puede asegurar, a nuestro entender, mediante un proceso que tenga la patología digital como elemento básico para su funcionamiento, mediante el análisis automatizado de biomarcadores [31].

El análisis automatizado de imagen se enfrenta con la limitación técnica impuesta por la fijación de los tejidos, las variaciones en el grosor de los cortes o las variaciones impuestas por los métodos de tinción.

Los aspectos técnicos específicos a tener en cuenta para realizar análisis de imagen óptimo están relacionados con la calidad de la imagen obtenida, con el grado de compresión que se aplique a la imagen, con la eficiencia del software de análisis de imagen y con las funcionalidades del visor de preparaciones o fotografías digitales, que debe ser capaz de ofrecer un resultado intuitivo, por ejemplo superponiendo los resultados del análisis con la imagen original.

En esta sección nos centraremos en la ventaja del análisis de imagen automatizado frente a la cuantificación manual, especialmente en el cáncer de mama, finalizando con unas recomendaciones prácticas, que nos servirán de guía en la patología digital oncológica del futuro cercano.

INMUNOHISTOQUÍMICA

El proceso diagnóstico realizado por el patólogo se apoya en los datos clínicos del paciente, en los resultados de la imagen radiológica, en la morfología y en varias técnicas auxiliares, entre las cuales la inmunohistoquímica (IHQ) es la más importante. En los últimos 20 años se ha producido un incremento del 300% en los estudios basados en la IHQ [32].

La cuantificación de la inmunotinción es un proceso cada vez más usado en patología (ver sección "El paradigma"). La cuantificación manual de la tinción inmunohistoquímica de biomarcadores en tejidos es laboriosa y subjetiva, tendente a la variabilidad intra- e interobservador. Para minimizar esta variabilidad, nada mejor que el análisis automatizado de imagen virtual, que nos permite cuantificar la intensidad y extensión de la tinción. En los últimos años se han desarrollado numerosos algoritmos para el análisis automatizado de la imagen digital de varios marcadores inmunohistoquímicos, más rápidos, más objetivos

y más sensibles en la medición de la expresión proteica en los distintos tejidos [33-35]. Para impedir que determinadas variables no biológicas, derivadas de la imagen virtual o de la propia extracción de datos de la misma, sesguen los resultados, se ha avanzado en la estricta normalización del proceso en su conjunto [33,35-36].

La mayoría de los algoritmos para el análisis automatizado de imagen están diseñados para sistemas basados en preparaciones digitales. Los algoritmos diseñados para IHQ se pueden clasificar en esos grupos: nuclear, membrana, citoplasmático. Existe gran variedad de programas diseñados específicamente para el análisis cuantitativo de imagen en IHQ: ACIS, AQUA, Ariol SL-50, BLISS and IHC score, iVision and GenoMx, LSC Laser Scanning Cytometer, ScanScope, SlidePath's Tissue Image Analysis y Virtuoso son solo algunos ejemplos [34,37]. Algunos de ellos se presentan en forma de plataformas cerradas, de manera que el software de imagen solo se puede aplicar de manera reproducible en las preparaciones digitales generadas por los escáneres de la misma compañía. Algunos de estos sistemas tienen opciones adicionales para el análisis de técnicas de hibridación FISH o CISH (*Chromogenic In Situ Hybridization*). Lo que es más importante, varias de estas aplicaciones comerciales para el análisis automatizado de IHQ han demostrado unos resultados más reproducibles y uniformes que la evaluación manual y han recibido la aprobación para su uso diagnóstico por la FDA (US Food and Drug Administration).

TERAPIA DIRIGIDA PERSONALIZADA

La medicina personalizada es el intento de tratar a cada paciente como individuo. Recientemente, las terapias dirigidas contra una variedad de tumores malignos han mostrado tasas de respuesta significativas clínicamente, de manera que en oncología han desarrollado estrategias terapéuticas basadas en el individuo para estos pacientes. A gran escala, se ha demostrado que estas aproximaciones terapéuticas se asocian a un mejor comportamiento clínico [38-41]. Un estudio racional para estas aproximaciones terapéuticas implica la identificación de una molécula o moléculas diana en el tumor del paciente. Las diferentes moléculas diana se determinan de manera rutinaria mediante IHQ en las muestras quirúrgicas de los diferentes tumores, lo que genera una cantidad creciente de datos importantes para la toma de decisiones terapéuticas basadas en información pronóstica relevante [41]. La identificación de los pacientes que son subsidiarios de recibir un tratamiento personalizado óptimo demanda unos ensayos adecuados de alta calidad para la determinación de biomarcadores. De los aproximadamente 290 genes supresores de tumores y los 35 oncogenes que conocemos, solo hay 5 genes con tratamiento dirigido bien documentado en la actualidad: HER-2, EGFR, KRAS, BRAF y APC.

LA IHQ es la estrategia de cribado en la evaluación de la mayoría de los biomarcadores en la mayoría de los servicios de anatomía patológica. Cada laboratorio usa sus propios protocolos, con diferentes reactivos, diferentes procesos y características de tinción, distintos esquemas de puntaje y diferentes puntos de corte para cada biomarcador a valorar. Sin embargo, la reproducibilidad de la técnica (en todos sus niveles) es fundamental para la consistencia del algoritmo diagnóstico y terapéutico. Por esta razón, es recomendable el uso de kits de IHQ aprobados por la FDA y seguir las instrucciones especificadas en los mismos [39,42-44]. En este sentido, es relevante que se hayan realizado guías de actuación en la validación del propio uso de la preparación digital, lo que aportaría aún más calidad en la reproducibilidad de la técnica, en el proceso de la medicina personalizada [18,45].

EL PARADIGMA: RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA, KI67 Y HER-2 EN EL CÁNCER DE MAMA.

En Europa, el tratamiento personalizado del cáncer de mama precoz viene guiado, en gran parte, por las recomendaciones del consenso bianual de expertos de St. Gallen [46]. En el último consenso del año 2013, se pone de manifiesto la necesidad de maximizar la calidad de las determinaciones de los distintos biomarcadores que nos definirán, de manera subrogada a la IHQ, los distintos subtipos intrínsecos del cáncer de mama (tabla 1).

Tabla 1. Clasificación molecular subrogada a IHQ de cáncer de mama.

	RE	RP	Ki67	Her2
Luminal A like	Positivo	≥20%	<14%	Negativo
Luminal B like-Her2 negativo	Positivo	<20%	≥14%	Negativo
Luminal B like-Her2 positivo	Positivo	Indiferente	Indiferente (alto)	Positivo
Her2 no luminal	Negativo	Negativo	Indiferente (alto)	Positivo
Triple negativo	Negativo	Negativo	Indiferente (alto)	Negativo

Receptores de estrógenos y progesterona

La IHQ está aceptada como el método de evaluación estándar para la determinación de la expresión de los receptores de estrógenos (RE) y progesterona (RP). La definición de los distintos subtipos de cáncer de mama esta subrogada a los niveles de expresión de receptores de progesterona, con un punto de corte del 20%. Además, existe una relación estadísticamente significativa entre el nivel de expresión de estos receptores (tanto en intensidad como en extensión) con el grado de respuesta a quimioterapia hormonal (receptores como factor predictivo de respuesta a quimioterapia). Estos hechos son los que hacen imprescindible una buena estandarización de los test de IHQ y hacen recomendable el uso de la cuantificación automatizada de los niveles de expresión de receptores hormonales [46]. La valoración automatizada consigue una mejora en la cuantificación y la normalización. Varios grupos han publicado datos sobre la valoración automatizada de los RE y RP en cáncer de mama [47-50], con una excelente correlación con el análisis manual, además de la rapidez y la objetividad a la hora de graduar núcleos teñidos. Solo alguno de estos algoritmos de análisis de imagen nuclear por IHQ cuentan con la aprobación de la FDA.

Ki-67

Posiblemente, este es el biomarcador más estudiado en patología oncológica. Al establecerse un punto de corte del 14% en el cáncer de mama, el análisis automatizado mejora la reproducibilidad de la valoración [51], así como la clasificación de los tumores en las distintas categorías (luminal A frente a luminal B), aunque pueda ser necesaria una doble tinción con citoqueratina que permita no confundir células epiteliales con estromales o ruido de fondo [52,53].

HER-2

Dado el poder pronóstico y predictivo de este biomarcador, es absolutamente necesario asegurar la validez de su determinación, que permita un tratamiento específico y eficaz con anticuerpos monoclonales como trastuzumab.

La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) y el Colegio de Patólogos Americanos (CAP) editan una guía con las recomendaciones para los laboratorios para la evaluación de la expresión de HER-2 [54]. Se han desarrollado varios algoritmos para la determinación semiautomática o automática de la expresión de esta proteína [47,55] con una reproducibilidad contrastada [56]. Esta mejora en la precisión nos parece especialmente importante a la hora de determinar si la expresión de HER2 es 3+, ya que el paciente sería subsidiario de tratamiento, o bien de 2+, que implicaría hacer otra determinación diagnóstica (por FISH o CISH) con el consiguiente retardo en el diagnóstico y aumento en el coste [57]. La última guía ASCO/CAP recomienda el uso de sistemas de análisis automático de imagen validados por la FDA cuando estén disponibles en el servicio de anatomía patológica en cuestión.

CONSEJOS PRÁCTICOS

Todos los programas comerciales de análisis automatizado de imagen de biomarcadores de mama, (receptores hormonales, HER2, p53, Ki67), se basan en algoritmos similares dirigidos a la cuantificación por-

centual de señales (expresión positiva), nuclear o de membrana, puestas de manifiesto mediante técnica de inmunohistoquímica, frente a la falta de expresión de las mismas, en un zona determinada del tumor, de igual forma que realizamos en la cuantificación manual.

Dichos algoritmos están diseñados, para poder detectar pequeñas intensidades de tinción a partir de una zona umbral (fondo) que es considerada como negativa, otro parámetro que tienen en cuenta, para evitar cuantificación de señales no deseadas es el tamaño de la señal la cual es considerada como positiva o negativa, a partir de una determinada área.

Hay disponibles sistemas gratuitos y muy sencillos de usar [58,59] que requieren sin embargo, un periodo de adaptación y optimización para ser utilizados de manera fiable en la práctica diaria. También la mayor parte de los fabricantes de escáneres y algunas empresas especializadas en este sector han desarrollado sistemas de análisis de imagen especialmente orientados a los casos anteriores o también a la valoración de TMA (tissue microarrays), hibridación in situ o metodologías de fluorescencia. Estos sistemas comerciales son bastante fiables ya que suelen someterse a estudios de validación y evaluación por agencias de control de calidad, que en esta área de la patología digital tienen especial importancia [60].

Condiciones de escaneado

El escaneado de las preparaciones inmunohistoquímicas de los biomarcadores, es adecuado realizarlo con el objetivo de 20 x no siendo necesario escanear a 40 x, dado que para el análisis de la tinción IHQ, el escaneado a mayor aumento no aporta una mejor información al sistema de cuantificación y aumenta el tiempo de escaneado.

Selección de la zona de estudio

La forma de selección de los elementos a estudiar es parecida en todos los programas y se basa en la utilización de herramientas informáticas simples para poder delimitar de manera fácil las zonas de cuantificación.

De igual forma que realizamos el análisis de los marcadores en el microscopio, debemos hacerlo en el monitor, utilizando un aumento que proporcione un campo de la preparación lo suficientemente amplio y a la vez que nos permita poder trabajar fácilmente para la delimitación de las áreas de cuantificación. En nuestra experiencia esto se consigue utilizando el aumento de 10 o 20 x.

Para seleccionar las áreas a estudiar, en primer lugar debemos observar si se trata de una tumoración con una expresión del marcador homogénea o heterogénea, en caso de ser homogénea y según el tamaño del área a analizar (componente infiltrante) debemos delimitar las zonas de cuantificación, mediante las diversas herramientas informáticas del programa destinadas a este fin, evitando al máximo las zonas de estroma y áreas no tumorales, para conseguir que el porcentaje de positividad frente al total de células estudiadas corresponda principalmente a las células tumorales. El número de campos a estudiar dependerá del tamaño de la lesión pero es aconsejable contar un total de unas 1.000- 2.000 células, cifras que se obtiene fácilmente con estos sistemas (aproximadamente dos - tres campos de cuantificación).

Cuando la lesión tumoral presenta una positividad heterogénea, debemos actuar de forma similar a la que realizamos en la cuantificación manual, en el caso de los receptores hormonales debemos seleccionar diversas zonas tumorales con distintos porcentajes de positividad e intensidades, para obtener una media de la expresión de toda la tumoración, en el análisis de HER2 delimitar y analizar las zonas infiltrantes del tumor, excluyendo las zonas in situ y cuantificar principalmente las zonas con mayor sobreexpresión de la proteína.

En el caso del Ki67, es mejor desde un punto biológico analizar los clones con mayor proliferación (zonas más mitóticamente activas) aunque puede también realizarse una selección de distintas áreas del tumor, lo que nos da una media del índice proliferativo de la tumoración.

Verificación de los resultados

Los distintos programas editan los resultados de forma cualitativa, cuantitativa o gráfica y suelen indicar en el caso de marcadores nucleares, el número total de elementos contados (células), el número de señales positivas y negativas y su porcentaje. En el caso de HER2 (membrana) indican el número de elementos con-

tados y el recuento de tinción total, parcial o negativa de la membrana así como su intensidad, determinado con estos datos el score, según sus algoritmos, los cuales siguen normalmente las directrices de cuantificación que la ASCO/CAP determina. Una vez el sistema nos suministra el resultado, debemos verificar de forma visual si el mismo está de acuerdo con nuestra impresión diagnóstica; si esta difiere de manera evidente, buscar cual ha podido ser la causa y volver a la cuantificación, normalmente en nuestra experiencia es casi siempre una mala delimitación del campo a analizar.

AVANCES EN EL ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE BIOMARCADORES

Para ver la importancia que está adquiriendo el análisis de imagen y de la que seguramente tendrá en un futuro próximo, solo hace falta examinar las recomendaciones en la validación del sistema de patología digital en los servicios de anatomía patológica, ya mencionadas [18]. Un departamento que tenga un sistema de patología digital basado en preparaciones digitales cuenta con una gran ventaja a la hora de ser competitivo con respecto a otros, no solo en lo que a la determinación de biomarcadores en cáncer de mama respecta.

De la misma manera que el Ki67 es un factor pronóstico en el cáncer de mama, es importante también en otras neoplasias, como pueden ser los tumores neuroendocrinos el tumor del estroma gastrointestinal o el melanoma. Se están desarrollando algoritmos para el primer caso [61] que mejoran la concordancia interobservador y aumentan (de nuevo) la calidad del proceso [45]. O bien se pueden cuantificar otras proteínas, como el caso de las células inmunes en el cáncer de colon, de manera que se generasen nuevos sistemas de clasificación que mejorasen los ya existentes (como el TMN) [62].

En investigación es fundamental el uso de análisis de imagen automatizado. Una cuantificación automatizada de potenciales biomarcadores sobre una plataforma basada en TMA (tissue microarrays) aumentaría no solo la calidad [45,63] sino la precisión de los modelos pronósticos generados [64] y la velocidad con que estos pudieran tener salida al mercado en relación con futuros tratamientos dirigidos.

La medicina personalizada es más compleja, pero más racional y más efectiva: se dan tratamientos específicos a quien los necesita y no se le dan a quien no los necesita. Como hemos visto, la Patología, la Oncología y la Industria, mediante el análisis automatizado de imagen, podrían ir de la mano a la hora de determinar con la mayor calidad la expresión de los distintos biomarcadores, fundamento de la (competitiva) terapia dirigida.

VI. COSTE EFECTIVIDAD DE PATOLOGÍA DIGITAL

El cambio a patología digital es aún más complejo que el vivido por radiología pues nuestras imágenes microscópicas son mucho más complejas que las imágenes radiológicas por su información de color y por su tamaño y, además, para justificar el cambio a digital, aunque en radiología se esgrime como argumento la disminución de costes al no tener que usar placas radiológicas, en anatomía patológica no podemos eliminar las preparaciones en vidrio ni la exposición a productos químicos peligrosos. Hoy día, el cambio al modelo digital debemos hacerlo añadiendo nuevos pasos al flujo de trabajo prediagnóstico, que son los que conlleva el escaneado de preparaciones (selección de preparaciones, limpieza, carga del alimentador automático, comprobación de resultados, reescaneado, descarga del alimentador de preparaciones y archivo de las preparaciones originales).

El presupuesto de un servicio de anatomía patológica apenas llega al 1% del total de un hospital. ¿Cómo es posible que un servicio con un presupuesto anual total de 500.000 euros pueda adquirir y mantener equipamiento que a menudo supera los 200.000 euros?

La clave puede estar en buscar aquellos aspectos de la implementación de la patología digital que a corto o medio plazo pueden ayudar a ahorrar costes en el sistema sanitario [65]

En general, los siguientes factores pueden ser considerados "facilitadores" de la adopción de patología digital [66]:

- Ahorro de costes
 - Evitamos tener que reemplazar microscopios convencionales
 - Los monitores y ordenadores tienen múltiples usos (además de patología digital)

- Rendimiento
 - El número de aplicaciones para preparaciones digitales crece continuamente
 - Ergonómicamente puede ser la única opción para que patólogos con problemas de salud puedan seguir trabajando como patólogos.
 - Mejorar la productividad. Reducir el tiempo que el patólogo dedica a buscar las preparaciones que coinciden con la hoja de solicitud de estudio anatomopatológico o buscarlas para preparar comités de tumores, estudios de investigación o para mostrárselas a los residentes. Se estima que actualmente el patólogo invierte un 15% de su tiempo en estas tareas [66].
 - Es posible centralizar la relación de algunas técnicas especiales.
 - Equilibrar más equitativamente las cargas de trabajo entre los patólogos.
 - Los casos más complejos pueden ser asignados directamente a patólogos especializados. Disminuir los tiempos de segunda opinión.
 - Realizar reuniones vía web (webinar) que eviten desplazamientos para alcanzar un consenso en el diagnóstico.
- Eficiencia en el flujo de trabajo
 - La integración con el SIAP evita errores de identificación de muestras y posible pérdida de datos
 - Tras un entrenamiento adecuado, la navegación por la preparación puede ser muy efectiva, comprobado que no se quedan áreas sin revisar.
 - Es posible ver múltiples preparaciones simultáneamente.
 - Facilitar el acceso a casos de referencia que sirven para comprobar diagnósticos de sospecha.
 - Las herramientas de ayuda al diagnóstico (detección de área sospechosa de tumor) y a la cuantificación de biomarcadores o de mitosis son algunas de las aplicaciones que mejoran la eficiencia y la calidad del diagnóstico.
 - Es más eficiente revisar las preparaciones digitales con residentes durante la validación de los casos, sobre todo cuando el patólogo tiene su cargo más de un residente. Los residentes pueden revisar posteriormente las anotaciones realizadas durante la validación.
- Mejor acceso a servicios de patología desde lugares con pocos recursos
 - Facilitar el acceso a expertos o servicios muy especializados a lugares remotos que no disponen de servicio de anatomía patológica.
 - Evitar los costes y los retrasos al utilizar servicios de mensajería para enviar preparaciones para diagnóstico primario o segunda opinión.
 - Evitar posibles pérdidas o daños en el transporte de preparaciones convencionales, que son muy frágiles.

Los costes reales de un sistema de patología digital incluyen, al menos los siguientes:

- Adquisición e instalación (escáner, base de datos ordenadores, monitores). 200.000 euros.
- Integración con SIAP. 20.000 euros.
- Formación de patólogos y técnicos especialistas de anatomía patológica (TEAP). 5.000 euros (unas 10 personas).
- Mantenimiento anual de todo el sistema en el servicio de anatomía patológica, incluyendo actualización de licencias o del software de análisis de imagen. 20.000 a 40.000 euros al año.
- Coste de recursos humanos para digitalizar, gestionar la información o manipular las preparaciones y su archivo [67]. 30.000 euros
- Mantenimiento anual de servidores en el servicio de informática. 10.000 euros al año (mantenimiento y licencias de bases de datos y servidores).
- **Almacenamiento anual de preparaciones digitales. 360.000 euros** (120.000 preparaciones escaneadas a 0,25 micras/píxel, cada una de 1 GB; unos 120 TB/año; asumiendo un coste de 3.000 euros/TB en un servicio de informática hospitalario).

Ho et al estimaron que los ahorros que se producen en mejoras de la productividad y organización gracias a la implantación de la patología digital son muy significativos (en torno a 12,4 millones de dó-

lares en 5 años para 20 hospitales), a los que habría que añadir el ahorro producido por las mejoras en el diagnóstico y tratamiento de algunos tipos de cáncer (unos 5,4 millones de dólares en esas mismas circunstancias), suponiendo que el 90% de las biopsias son diagnosticadas mediante preparaciones digitales [65].

En la práctica, la adquisición de los equipos de patología digital puede hacerse de diversas formas:

- Compra directa por algún proyecto de investigación
- Opción de “mejora” o de valor añadido en un concurso público de reactivos
- Se incluye como instrumental necesario en concurso público de reactivos
- Se indica un lote específico de patología digital en un concurso público que incluye otros lotes (generalmente, de reactivos)
- Concurso/contrato público para compra de equipos (4 o 5 años, con extensión de 2 años)
- Concurso/contrato público para provisión de servicios
- Proyecto nacional o regional

No es aconsejable adquirir un sistema de patología digital para uso asistencial si antes no existe un proyecto de digitalización en el que se contemple, al menos:

- La integración del sistema de patología digital con el sistema de información de anatomía patológica
- Los recursos humanos (p. ej TEAP) que podrán dedicarse a las labores de digitalización.
- La lectura automatizada de códigos de barras de preparaciones
- Capacidad de almacenamiento digital para los próximos 3 años

A la hora de elegir un modelo de escáner o de sistema de patología digital, deben valorarse, como mínimo:

- Una estimación del número de preparaciones que se van a escanear anualmente
- Número de patólogos que van a utilizar el sistema
- Qué criterios de calidad y de resolución son los que necesitamos, según los tipos de muestras o las técnicas utilizadas (una biopsia prostática o la detección de microorganismos pueden requerir resoluciones mayores)
- Si necesitamos aplicar algoritmos de análisis de imagen (TMA, biomarcadores)
- Contemplar la renovación tecnológica de los equipos y el software al cabo de 5 años.
- Contrato de mantenimiento
- Coste de la integración con otros sistemas (SIAP, PACS)

Es conveniente que además de la descripción del sistema de patología digital que necesitamos y su dimensionamiento, se acompañen del objetivo asistencial o de gestión perseguido, que puede ser la simplificación de procesos, el facilitar el acceso remoto a preparaciones digitales, la mejora en la seguridad y en la eficiencia, etc. Como ejemplo, podemos tomar el concurso público publicado por el NHS en Gales el 25 de septiembre de 2014 (T.0444 Digital Pathology Solution), en el que se describía:

- *Un concurso para la provisión de una solución de patología digital, en concreto un equipo completo de escáner de preparaciones digitales y estación de trabajo de patólogo (software), que puede integrarse con sistema de información del laboratorio marca XXXX, un sistema de gestión de preparaciones digitales y de archivo de imágenes, formación, mantenimiento y soporte técnico.*
- *Las ofertas serán enviadas a XXXX y el proveedor seleccionado firmará un contrato por 5 años, con opción a 2 años más. Se necesitan que hasta 12 patólogos puedan realizar sus informes usando preparaciones digitales, 8 en el hospital central de referencia y dos estaciones en cada uno de los lugares remotos [...].*
- *Los principales beneficios que pueden anticiparse serán la mejora en la eficiencia de los flujos de trabajo, dado lugar a una flexibilidad en los circuitos con una menor circulación de preparaciones físicas.*
- *El valor estimado total de la compra para toda la duración del contrato oscila entre 500.000 y 2.000.000 de libras esterlinas.*
- *El principal criterio de valoración será el precio, siempre que se cumplan los criterios expuestos en el contrato.*

VII. EVALUACIÓN DE RIESGOS Y ASPECTOS ÉTICOS. NORMATIVA.

La Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) tiene que liderar los cambios que sean precisos en las normativas actuales sobre aspectos éticos y legales. En el momento actual no existe ninguna norma referida a la digitalización de preparaciones sobre las que se efectúa el diagnóstico anatomopatológico (DAP). Nuestro objetivo, como patólogos de la SEAP, debe ser garantizar a los ciudadanos que la normativa a este respecto es científicamente correcta y legalmente ajustada al derecho. Este tema será objeto de debate entre los patólogos, ya que se han detectado algunas discrepancias de base. El presente capítulo ha de entenderse como una base para el citado debate.

SITUACIÓN LEGAL INTERNACIONAL

Al menos cuatro fabricantes de sistemas de patología digital disponen de marcado CE que autoriza el uso de los escáneres de preparaciones para el diagnóstico anatomopatológico primario de rutina en la Unión Europea. Conviene recordar que en la Unión Europea este marcado CE sólo indica que el fabricante cumple una serie de especificaciones técnicas. En EE.UU. la FDA ha clasificado los escáneres de preparaciones como dispositivos clase III, lo que obliga a los fabricantes a realizar estudios de validación clínica, actualmente en marcha, para poder usar estos dispositivos en diagnóstico primario.

Podemos concluir que es esencial que el sistema de patología digital disponga al menos del marcado CE para su uso en diagnóstico primario.

En EE.UU., la norma CLIA (Clinical Laboratory Improvements Act) requiere que todas las pruebas ("test") de laboratorio sean validadas; sin embargo, en el caso de una preparación digital que tienen una preparación teñida con hematoxilina-eosina no se sabe qué parte es la prueba que debe validarse, ya que ha pasado por varias fases [66].

En todos los países, a los patólogos les preocupa que la adopción de la patología digital enlentezca su trabajo y aumente la posibilidad de cometer errores. Además con necesarios estudios de ergonomía que estudien la fatiga visual que pueda producirse al utilizar monitores en vez de microscopios [66]. A pesar de ello, tal y como se ha expuesto anteriormente, las pruebas científicas actuales indican que el uso de las preparaciones digitales no afectan negativamente a la adecuada atención sanitaria de los pacientes ni la certeza de diagnóstico de cada patólogo [18,66].

SITUACIÓN LEGAL ACTUAL EN ESPAÑA

Las normativas autonómicas así como el Libro Blanco de la Anatomía Patológica en España de 2009 indican la obligatoriedad de mantener preparaciones y bloques de las biopsias durante 10 años [68-70]. La realidad es que en la práctica totalidad de los servicios de anatomía patológica de hospitales públicos (SAPHP) no se eliminan nunca ni bloques ni preparaciones, por su valor científico. Los datos del Libro Blanco indican un 85% de conservación eterna de bloques y una 75% de SAPHP que preservan *sine die* preparaciones [70]. Estas normas permiten la conservación de los informes en soporte informático del tipo que sea, no siendo precisa su conservación en papel impreso. Es destacable que éste último aspecto se refiere al informe como parte de la historia clínica y es el hospital el responsable de ésta conservación. Cualquier cambio de normativa tiene que respetar los derechos de los pacientes y mantener las normativas globales referidas a nuestra especialidad, que fueron revisadas ampliamente por A. Paños-Perez, entre las que cabe destacar la obligatoriedad de mantener al menos durante 30 años la trazabilidad de la información sobre el material biológico existente en los servicios de anatomía patológica debe tener trazabilidad [71].

CASOS SUSCEPTIBLES DE DIGITALIZACIÓN

Todos los casos de biopsias pueden ser digitalizados, si bien las biopsias grandes, rutinarias y sin grandes dificultades de diagnóstico suponen un mayor beneficio sobre la gestión global. Iniciar el proceso de digitalización por las piezas quirúrgicas genera conocimiento, práctica y agilidad que posteriormente son necesarias en el proceso de adaptación a biopsias endoscópicas o punciones. Para limitar el riesgo de errores

en las primeras fases de la implementación, se aconseja la validación en cada centro, tal y como se discute en el apartado 4, de modo que se genera confianza en el grupo que inicia el DAP.

CONSIDERACIONES SOBRE LAS PREPARACIONES MICROSCÓPICAS

Las preparaciones microscópicas en formato cristal para microscopía convencional (MC) pueden ser sustituidas por las imágenes digitales mediante el escaneado completo de preparaciones (WSI). Ésta aseveración es compartida parcialmente por los patólogos consultados. Datos obtenidos de un estudio realizado [72] indican que en la mayoría de los casos de diagnóstico rutinario (entre el 65% y el 80% de la práctica asistencial convencional dependiendo de las diferentes especialidades) es posible eliminar las preparaciones de forma inmediata tras su digitalización. Por ello, la SEAP debería definir unos criterios aceptables para la mayor parte de los patólogos. Una respuesta simple podría ser eliminar todas las preparaciones convencionales en las que exista un bloque de parafina con material residual adecuado [72].

CONSIDERACIONES SOBRE LAS IMÁGENES DIGITALES

Cuando un SAPH se plantea el diagnóstico rutinario de su material y el número de preparaciones digitalizadas aumenta, debe tenerse en cuenta el gran consumo de espacio en disco que la conservación de las todas las imágenes va a representar. Es necesario plantear estrategias dirigidas a reducir las necesidades de archivo de imágenes como la compresión de archivos o la posibilidad de eliminar las imágenes digitales tras un período de tiempo para su posible revisión. Dicha eliminación podría realizarse tras un período de 12 meses durante los cuales las imágenes estarían disponibles para su revisión. Estas estrategias basadas en la eliminación pueden reducir, según un estudio presentado en USCAP 2015, más del 80% del espacio de disco [72]. Ello podría, por tanto, reducir hasta cinco veces la inversión en servidores destinados al almacenamiento de imágenes. Es preciso reseñar, como eje de la discusión, que la eliminación de archivos debería afectar solo a casos en los que existieran bloques de parafina con material suficiente, que garantizaran la posible revisión del caso y/o la realización, si se precisara, de técnicas ancilares. Es también necesario indicar que la naturaleza digital de los archivos y su obligado registro en los sistemas de información de los laboratorios deberían permitir realizar este proceso de borrado de forma automática y protocolizada según criterios bien establecidos. La SEAP debería tener un papel clave en la definición de estos criterios de preservación de preparaciones e imágenes.

CAMBIOS A DESARROLLAR POR GRUPOS DE TRABAJO SOBRE LAS NORMATIVAS LEGALES DE ARCHIVO DE PREPARACIONES DE MC Y DE IMÁGENES DE WSI

Con el objeto de plantear las bases de un acuerdo sobre el cambio de normativa de archivo de preparaciones histológicas convencionales e imágenes digitales, y con la premisa de que simplificar es el mejor camino para que cualquier propuesta sea factible en la práctica diaria, se proponen las siguientes bases, estructuradas en cuatro aspectos clave:

1. Los cambios de normativa afectarán solamente a aquellos casos en los que se ha utilizado para diagnóstico únicamente la WSI.
2. Las imágenes con información diagnóstica o de pronóstico relevante, o bien las consideradas importantes por cuestiones docentes
3. Para utilizar la WSI como única herramienta de diagnóstico se requiere que exista un bloque de parafina con material residual suficiente que permita estudios adicionales en caso de que sea necesario.
4. Es necesario revisar las pruebas científicas y valorar si es necesario y si es posible adaptar la normativa legal existente para plantear la posibilidad de eliminar las preparaciones digitales, de cumplirse los criterios anteriores una vez se ha efectuado el diagnóstico y establecer en qué plazo puede llevarse a cabo esa eliminación.

COMENTARIO FINAL

Se considera importante que los patólogos muestren una visión abierta y capacidad de adaptación, de forma semejante a la que tuvieron los radiólogos hace más de una década cuando iniciaron el cambio

que ahora llega a nosotros. Este cambio tecnológico debería aprovecharse para adaptar las normativas, lo cual permitiría minimizar los problemas actuales de archivo que tienen la mayor parte de los hospitales en España. Aunque es fácil continuar manteniendo todo para siempre, creemos que es preciso ser realistas y alcanzar un equilibrio adecuado entre el interés por el coleccionismo y las verdaderas necesidades médicas, científicas, jurídicas y de gestión de recursos.

Bibliografía

1. Thorstenson S, Molin J, Lundström C. Implementation of large-scale routine diagnostics using whole slide imaging in Sweden: Digital pathology experiences 2006-2013. *J Pathol Inform* 2014;5:14.
2. Ordi J, Castillo P, Saco A, Del Pino M, Ordi O, Rodríguez-Carunchio L, Ramírez J. Validation of whole slide imaging in the primary diagnosis of gynaecological pathology in a University Hospital. *J Clin Pathol*. 2015 Jan;68(1):33-9.
3. Pantanowitz L, Wiley CA, Demetris A, Lesniak A, Ahmed I, Cable W, Contis L, Parwani AV. Experience with multimodality telepathology at the University of Pittsburgh Medical Center. *J Pathol Inform*. 2012;3:45
4. Park S, Parwani AV, Aller RD, Banach L, Becich MJ, Borkenfeld S, Carter AB, Friedman BA, Rojo MG, Georgiou A, Kayser G, Kayser K, Legg M, Naugler C, Sawai T, Weiner H, Winsten D, Pantanowitz L. The history of pathology informatics: A global perspective. *J Pathol Inform*. 2013 May 30;4:7.
5. FDA. Technical Performance Assessment of Digital Pathology Whole Slide Imaging Devices. Draft Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. February 25, 2015.
6. Gómez Tello V, Alvarez Rodríguez J, Núñez Reiz A, González Sánchez JA, Hernández Abadía de Barbará A, Martínez Fresneda M, Morondo Valdeolmillos P, Nicolás Arfelis JM, Pujol Varela I, Calvete Chicharro M; Sociedad Española de Medicina Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC). Estándares técnicos y funcionales, y proceso de implantación, de un sistema de información clínica en unidades de cuidados intensivos. *Med Intensiva*. 2011;35(8):484-96.
7. Ribback S, Flessa S, Gromoll-Bergmann K, Evert M, Dombrowski F. Virtual slide telepathology with scanner systems for intraoperative frozen-section consultation. *Pathol Res Pract*. 2014 Jun;210(6):377-82.
8. Canadian Association of Pathologists Telepathology Guidelines Committee, Bernard C, Chandrakanth SA, Cornell IS, Dalton J, Evans A, Garcia BM, Godin C, Godlewski M, Jansen GH, Kabani A, Louahlia S, Manning L, Maung R, Moore L, Philley J, Slatnik J, Srigley J, Thibault A, Picard DD, Cracower H, Tetu B. Guidelines from the Canadian Association of Pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging. *J Pathol Inform*. 2014 Mar 28;5:15.
9. Al Habeeb A, Evans A, Ghazarian D. Virtual microscopy using whole-slide imaging as an enabler for teledermatopathology: A paired consultant validation study. *J Pathol Inform*. 2012;3:2.
10. García Rojo M, Bueno G. Analysis of the impact of high resolution monitors in digital pathology. *J Path Informatics* 2015 (in press) .
11. Wright AM, Smith D, Dhurandhar B, Fairley T, Scheiber-Pacht M, Chakraborty S, Gorman BK, Mody D, Coffey DM. Digital slide imaging in cervicovaginal cytology: a pilot study. *Arch Pathol Lab Med*. 2013

- May;137(5):618-24.
12. Deroulers C, Ameisen D, Badoual M, Gerin C, Granier A, Lartaud M. Analyzing huge pathology images with open source software. *Diagn Pathol*. 2013 Jun 6;8:92.
 13. TIFF Tools Overview. <http://www.remotesensing.org/libtiff/tools.html> [Consultado 30-3-2015]
 14. LargeTIFFTools. <http://www.imnc.in2p3.fr/pagesperso/deroulers/software/largetifftools/> [Consultado 30-3-2015]
 15. Khushi M, Edwards G, de Marcos DA, Carpenter JE, Graham JD, Clarke CL. Open source tools for management and archiving of digital microscopy data to allow integration with patient pathology and treatment information. *Diagn Pathol*. 2013 Feb 12;8:22
 16. Microsoft Expression. <https://msdn.microsoft.com/en-us/expression/> [Consultado 30-3-2015]
 17. Sistemas de gestión de la calidad. Fundamentos y vocabularios (ISO 9000:2005)
 18. Pantanowitz L, Sinard JH, Henricks WH, Fatheree LA, Carter AB, Contis L, Beckwith BA, Evans AJ, Otis CN, Lal A, Parwani AV. Validating Whole Slide Imaging for Diagnostic Purposes in Pathology. Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:1710–1722.
 19. American Telemedicine Association. Clinical guidelines for telepathology. <http://www.americantelemed.org/docs/default-source/standards/clinical-guidelines-for-telepathologyFBFDA18D6793.pdf?sfvrsn=8>
 20. Pantanowitz L, Valenstein PN, Evans AJ, et al. Review of the current state of whole slide imaging in pathology. *J Pathol Inform* 2011 ; 2:36. doi: 10.4103/2153-3539.83746.Epub@2011 Aug 13: 36-3539
 21. Brachtel E, Yagi Y. Digital imaging in pathology- current applications and challenges. *J Biophotonics* 2012; 5:327-35
 22. Al-Janabi S, Huisman A, Van Diest PJ. Digital pathology: current status and future perspectives. *Histopathology*. 2012; 61:1-9.
 23. Cornish T C, Swapp R E, Kaplan K J. Whole-slide imaging: Routine Pathology Diagnosis. *Adv Anat Pathol*, vol 19, Number 3, May 2012
 24. Winokur TS, McClellan S, Siegal GP, et al. A prospective trial of telepathology for intraoperative consultation (frozen sections). *Hum Pathol* 2010; 134:1020-3.
 25. Fallon MA, Wilbur DC, Prasad M. Ovarian frozen section diagnosis: use of whole-slide imaging shows excellent correlations between virtual slide and original interpretations in a large series of cases. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1020-3.
 26. Evans AJ, Chetty R, Clarke BA, Croul S, Ghazarian DM, Kiehl TR, et al. Primary frozen section diagnosis by robotic microscopy and virtual slide telepathology: the University Health Network experience. *Hum Pathol*. 2009;40:1070–81.

27. Ho J, Parwani AV, Jukic DM, Yagi Y, Anthony L, Gilbertson JR. Use of whole slide imaging in surgical pathology quality assurance: design and pilot validation studies. *Hum Pathol.* 2006;37:322–31.
28. Gavrielides MA, Gallas BD, Lenz P, Badano A, Hewitt SM. Observer variability in the interpretation of HER2/neu immunohistochemical expression with unaided and computer-aided digital microscopy. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135:233–42.
29. Manion E, Cohen MB, Weydert J. Mandatory second opinion surgical pathology referral material: clinical consequences of major disagreements. *Am J Surg Pathol.* 2008; 32:732-7.
30. Bernard C, Chandrakanth S A, Cornell IS, Dalton J, Evans A, Garcia BM, et al. Guidelines from the Canadian Association of Pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging. *J Pathol Inform* 2014;5:15
31. Slodkowska J, Garcia-Rojo M. Digital pathology in personalized cancer therapy. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2011;49(4):570-578.
32. Kalyuzhny AE. The dark side of the immunohistochemical moon: industry. *J Histochem Cytochem* 2009;57:333-340.
33. Krenacs T, Zsakovics I, Micsik T, et al. Digital microscopy the upcoming revolution in histopathology teaching, diagnostics, research and quality assurance, In: A. Méndez-Vilas and Díaz Álvarez (Edrs) *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education.* Vol. 2, 965-77, Publisher: Formatex Research Center, Badajoz, 2010, (ISBN (13): 978-84-614-6190-5).
34. García-Rojo M., Bueno G., Slodkowska J. Review for imaging solutions for integrated quantitative immunohistochemistry in the pathology daily practice. *Folia Histochem Cytobiol* 2009;47:349-354.
35. Di Napoli A, Signoretti S. Tissue Biomarkers in Renal cell Carcinoma: Issues and Solutions. *Cancer* 2009;115(10):2290-97.
36. López C, Lejeune P, Escriva P, et al. Effects of Image Compression on Automatic Count of Immunohistochemically Stained Nuclei in Digital Images. *J Am Med Inform Assoc* 2008;15:794-98.
37. Cregger M, Berger AJ, Rimm DL. Immunohistochemistry and Quantitative Analysis of protein Expression. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:1026-30.
38. Yaziji H, Taylor CR, Goldstein NS, et al. Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008;16:513-20.
39. Keedt VL, Temin S, Somerfield MR, et al. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: epidermal growth factor receptor (EGFR) Mutation testing for patients with advanced non-small-cell lung cancer considering first-line EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy. *J Clin Oncol.* 2011 May 20;29(15):2121-7.
40. Cheng L, Zhang S, Alexander R, et al. The landscape of EGFR pathways and personalized management of non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.* 2011 Apr;7(4):519-41.
41. Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, et al. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded

- tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 2004;52(7):893-901.
42. Nakhleh RE, Grimm EE, Idowu MO, et al. Laboratory compliance with the American Society of Clinical Oncology/college of American Pathologists guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: a College of American Pathologists survey of 757 laboratories. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 May;134(5):728-34.
 43. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond ME, et al. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Jun;134(6):930-5
 44. Sauter G, Lee J, Bartlett JM, et al. Guidelines for human epidermal growth factor receptor 2 testing: biological and methodologic considerations. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8):1323-33.
 45. Gray A, Wright A, Jackson P, et al. Quantification of histochemical stains using whole slide imaging: development of a method and demonstration of its usefulness in laboratory quality control. *J Clin Pathol.* 2015 Mar;68(3):192-9.
 46. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013 Sep;24(9):2206-23.
 47. Słodkowska J, Filas V, Buszkiewicz E, et al. Study on breast carcinoma Her2/neu and hormonal receptors status assessed by automated images analysis systems: ACIS III (Dako) and ScanScope (Aperio). *Folia Histochem Cytobiol.* 2010 Jan 1;48(1):19-25.
 48. Sharangpani GM, Joshi AS, Porter K, et al. Semi-automated imaging system to quantitate estrogen and progesterone receptor immunoreactivity in human breast cancer. *J Microsc* 2007 Jun;226(Pt 3):244-55.
 49. Rexhepaj E, Brennan DJ, Holloway P, et al. Novel image analysis approach for quantifying expression of nuclear proteins assessed by immunohistochemistry: application to measurement of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2008;10(5):89.
 50. Gokhale S, Rosen D, Sneige N, et al. Assessment of two automated imaging systems in evaluating estrogen receptor status in breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2007;15(4):451-5.
 51. Vörös A, Csörgő E, Kóvári B, et al. The Use of Digital Images Improves Reproducibility of the Ki-67 Labeling Index as a Proliferation Marker in Breast Cancer. *Pathol Oncol Res* 2013; Nov 8. [Epub ahead of print]
 52. Harvey J, Thomas C, Wood B, et al. Practical issues concerning the implementation of Ki-67 proliferative index measurement in breast cancer reporting. *Pathology* 2015 Jan;47(1):13-20.
 53. Laurinavicius A, Plancoulaine B, Laurinaviciene A, et al. A methodology to ensure and improve accuracy of Ki67 labelling index estimation by automated digital image analysis in breast cancer tissue. *Breast Cancer Res* 2014;16(2):35.
 54. Wolff AC, Hammond ME, Hicks, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2013 Nov 1;31(31):3997-4013.

55. Ciampa A, Xu B, Ayata G, et al. HER-2 status in breast cancer: correlation of gene amplification by FISH with immunohistochemistry expression using advanced cellular imaging system. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2006 Jun;14(2):132-7.
56. Keay T, Conway CM, O'Flaherty N, et al. Reproducibility in the automated quantitative assessment of HER2/neu for breast cancer. *J Pathol Inform.* 2013 Jul 31;4:19.
57. Vogel UF. Confirmation of a low HER2 positivity rate of breast carcinomas - limitations of immunohistochemistry and in situ hybridization. *Diagn Pathol* 2010 Jul 29;5:50.
58. <https://sites.google.com/site/dermpathsy3/Home/using-imagej-to-know-the-ki67-index> [Consultado 31-3-2015]
59. Inmunoratio. <http://153.1.200.58:8080/inmunoratio/> [Consultado 31-3-2015]
60. Cornish TC, Swapp RE, Kaplan KJ. Whole-slide imaging: routine pathologic diagnosis. *Adv Anat Pathol.* 2012;19(3):152-9.
61. Tang LH, Gonen M, Hedvat C, et al. Objective quantification of the Ki67 proliferative index in neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system: a comparison of digital image analysis with manual methods. *Am J Surg Pathol* 2012 Dec;36(12):1761-70.
62. Halama N, Zoernig I, Spille A, et al. Quantification of prognostic immune cell markers in colorectal cancer using whole slide imaging tumor maps. *Anal Quant Cytol Histol* 2010 Dec;32(6):333-40.
63. Mroz P1, Parwani AV, Kulesza P, et al. Central pathology review for phase III clinical trials: the enabling effect of virtual microscopy. *Arch Pathol Lab Med* 2013 Apr;137(4):492-5.
64. Dander A, Baldauf M, Sperk M, et al. Personalized Oncology Suite: integrating next-generation sequencing data and whole-slide bioimages. *BMC Bioinformatics* 2014 Sep 18;15:306.
65. Ho J, Ahlers SM, Stratman C, Aridor O, Pantanowitz L, Fine JL, Kuzmishin JA, Montalto MC, Parwani AV. Can digital pathology result in cost savings? A financial projection for digital pathology implementation at a large integrated health care organization. *J Pathol Inform.* 2014 Aug 28;5:33
66. Ghaznavi F, Evans A, Madabhushi A, Feldman M. Digital Imaging in Pathology: Whole-Slide Imaging and Beyond. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2013. 8:331–59.
67. Barisoni L, Nast CC, Jennette JC, Hodgins JB, Herzenberg AM, Lemley KV, Conway CM, Kopp JB, Kretzler M, Lienczewski C, Avila-Casado C, Bagnasco S, Sethi S, Tomaszewski J, Gasim AH, Hewitt SM. Digital pathology evaluation in the multicenter Nephrotic Syndrome Study Network (NEPTUNE). *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Aug;8(8):1449-59.
68. Comunidad autónoma de Madrid. Orden 2095/2006, de 30 de Noviembre.
69. Documento sobre Anatomía Patológica. Conselleria de Salut. Generalitat de Catalunya. www.gencat.cat
70. Libro blanco de la SEAP. Edición 2009.

71. Alba Paños-Pérez. Marco legal de los servicios de anatomía patológica vigente en España. *Patologia. Revista latinoamericana* 2013; 51:23-28.
72. Saco A, Ramírez J, Sagasta A, Ordi O, Martinez A, Ordi J, Whole-Slide Imaging in the Routine in a Pathology Laboratory: Can File Storage Requirements be Reduced by Deleting Unnecessary Images? *Mod Pathol* 2015; 28 (Supl 2): 401A

RECOMENDACIONES DEL CLUB IBÉRICO DE PATOLOGÍA ENDOCRINA DE LA SEAP

Introducción

José Manuel Cameselle-Teijeiro, coordinador del club

Correspondencia: josemanuel.cameselle@usc.es

En un reciente editorial de la Revista Española de Patología¹, el Dr. Miguel Ángel Piris destacaba la necesidad de contar con guías de consenso para el diagnóstico de procesos complejos y cómo las guías de práctica clínica son esenciales para la realización de nuestro trabajo. El patólogo desempeña un papel central en el proceso del diagnóstico y su actividad implica una compleja integración de datos clínicos, morfológicos, inmunohistoquímicos y moleculares. Como se recogía en dicho artículo, las guías son recomendaciones que buscan optimizar la asistencia, consolidando el grado de conocimiento existente en un área precisa. Con estas premisas y siguiendo las directrices del Libro Blanco, nuestro Club Ibérico de Patología Endocrina ha elaborado dos nuevas propuestas para el manejo de las muestras y la elaboración del informe diagnóstico estandarizado en patología tiroidea y de las glándulas paratiroides.

Para ello, se ha contado con un grupo de expertos que han tratado de identificar las preguntas a contestar en el informe anatomopatológico y cuál debería ser el manejo de las muestras para obtener dichas respuestas de manera coste-efectiva. La revisión de la literatura trató de asegurar unos protocolos actualizados basados en la evidencia científica, destinados a proporcionar información relevante para las decisiones clínicas. Estos protocolos han incluido consideraciones generales sobre nuevas entidades clínico-patológicas no recogidas en la Clasificación Internacional de la OMS², aspectos prácticos para el manejo de las piezas macroscópicas, datos inmunohistoquímicos, moleculares y también sobre la estadificación tumoral. Debido a que en los informes de tipo narrativo es frecuente la omisión de alguno o varios datos esenciales^{3,4} se ha propuesto un formato sinóptico que también puede ser utilizado como lista de verificación. Finalmente, el borrador se sometió a revisión crítica y aprobación por los patólogos y residentes del Club Ibérico de Patología Endocrina.

Dado que durante la realización de estos trabajos han surgido nuevas propuestas, estamos seguros de que nuestro Club podrá ofrecer en breve, textos adicionales que puedan contribuir a facilitar y optimizar nuestro trabajo cotidiano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Piris Pinilla MA. Guías de consenso, una necesidad para el trabajo cotidiano. *Rev Esp Patol.* 2014;197-8.
2. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004.
3. Isidro ML, Lugo G, Fidalgo O, García-Arias S. Adequacy of pathology reports of specimens from patients with differentiated thyroid cancer. *Endocr Pathol.* 2012;23:215-20. 50.
4. Lam E, Vy N, Bajdik C, Strugnell SS, Walker B, Wiseman SM. Synoptic pathology reporting for thyroid cancer: a review and institutional experience. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2013;13:1073-9.

Patología de la glándula tiroides. Propuesta para el manejo de las muestras y la elaboración del informe diagnóstico estandarizado.

José Manuel Cameselle-Teijeiro^{1*}, Catarina Eloy², Ihab Abdulkader¹, Xavier Matías-Guiu³, Manuel Sobrinho-Simões²

1 *Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.*

2 *Instituto de Patología Molecular e Inmunología de la Universidad de Oporto (IPATIMUP), Oporto, Portugal.*

3 *Departamento Patología, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLleida, Lleida, España.*

Correspondencia: josemanuel.cameselle@usc.es

I. CONSIDERACIONES GENERALES

Es necesario que el informe anatomopatológico de los tumores de la glándula tiroides sea preciso y completo debido a que muchas características histológicas afectan a la clasificación, estadificación y el pronóstico, influyendo directamente en las decisiones clínicas. Por las mismas razones, es esencial que un patólogo experto participe como un miembro fundamental en los equipos multidisciplinares locales para el cáncer de tiroides¹. En este texto se describen recomendaciones genéricas y específicas para el manejo de las muestras de patología quirúrgica tiroidea y la elaboración del informe final. Estas orientaciones recogen las directrices más ampliamente aceptadas¹⁻⁴. No obstante, algunas recomendaciones dependerán de las preferencias de cada institución y es previsible que algunos datos ahora opcionales, p. ej. ciertos datos moleculares, se incorporen de forma rutinaria a los informes anatomopatológicos en un corto plazo.

Previamente a la cirugía tiroidea, la mayoría de las lesiones tiroideas deberían haber tenido una citología por punción aspiración con aguja fina (PAAF)¹. El informe de PAAF debería incluir las categorías diagnósticas del sistema de Bethesda para la citopatología tiroidea⁵. Algunos tests de diagnóstico citológico-molecular pueden ayudar a establecer la probabilidad de malignidad⁶ o detectar malignidad^{7,8} y mejorar las decisiones sobre los pacientes con nódulos tiroideos. Aunque el coste-efectividad de los tests de diagnóstico citológico-molecular está en discusión, es previsible que las técnicas de secuenciación de nueva generación mejoren la sensibilidad y disponibilidad de estos estudios^{9,10}.

Está documentada la variación inter-observador al evaluar la histopatología tiroidea^{11,12} y puede ser necesaria experiencia¹ para reconocer algunas características relacionadas con el pronóstico^{13,14}. Por ello, los patólogos implicados en el diagnóstico de los tumores tiroideos deben tener dedicación especial a la patología tiroidea o disponer de una red de apoyo que le permita revisar su patología¹.

Los tumores tiroideos deben ser diagnosticados de acuerdo con los criterios de la OMS¹⁴. Algunos subtipos tumorales descritos con posterioridad como la variante de carcinoma papilar con células en clavo (hobnail variant)¹⁵⁻¹⁷ y el carcinoma tiroideo con elementos tumorales de la familia Ewing/PNET (CEFTE)^{18,19}, merecen consideración por su relación con el pronóstico. En caso de necesidad, se recomienda utilizar el algoritmo de la denominada "propuesta de Turín" para diferenciar entre carcinoma folicular ampliamente invasivo, carcinoma pobremente diferenciado y la variante sólida del carcinoma papilar²⁰⁻²². Dicho algoritmo de diagnóstico es aplicable también a los tumores oncocíticos²³. Por su repercusión en el pronóstico, la presencia de $\geq 10\%$ áreas pobremente diferenciadas en un tumor diferenciado debe ser comunicada en el informe²⁴. En algunos tumores el grado va implícito con el tipo tumoral, no obstante, la especificación del índice mitótico (o porcentaje de Ki-67) y la presencia y cantidad de necrosis tumoral podría ser de interés^{2,3,20}. Para establecer una correlación con los hallazgos citológicos y/o con técnicas de imagen puede ser deseable incluir en el informe de algunas características tumorales secundarias como la metaplasia escamosa y/o mucinosa, el cambio de células claras, la presencia de cuerpos de psammoma u otras calcificaciones, la reacción desmoplásica y el depósito de amiloide^{2,3}.

Las piezas quirúrgicas deben ser manejadas e informadas de forma protocolizada¹⁻⁴. El estudio de secciones congeladas en biopsia intraoperatoria puede realizarse de forma ocasional para confirmar el diagnóstico de carcinoma papilar o para confirmar la afectación de ganglios linfáticos, pero no debe ser utilizada para diferenciar entre carcinoma folicular y adenoma folicular²⁵⁻²⁸.

II. DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA Y SELECCIÓN DE BLOQUES PARA INCLUSIÓN.

El examen macroscópico de la muestra es un proceso sistematizado²⁻⁴ que registrará información sobre:

1. El procedimiento quirúrgico, cómo se recibió la muestra (p. ej. en fresco o fijada, intacta o previamente seccionada) y cómo está identificada. La pieza de hemitiroidectomía (lobectomía) generalmente se acompaña de tejido del istmo. La tiroidectomía casi total incluye en una lobectomía tiroidea, istmeotomía y una lobectomía contralateral de la que se dejan 1 o 2 g de tejido en el paciente. En las muestras de tiroidectomía subtotal, el informe debe especificar qué lóbulo se eliminó por completo o cuál parcialmente. La enucleación de nódulos tiroideos no es una práctica estándar pues puede ser inadecuada para el diagnóstico al impedir la evaluación de la interfase entre el tumor y el tejido adyacente.
2. Dimensiones (X x Y x Z en cm) y peso (en g).
3. Forma exterior, simetría, color y consistencia de la muestra; describir la presencia y apariencia de los tejidos extratiroideos (p. ej. rotura de la cápsula, posible tejido paratiroideo, ganglio linfático, músculo esquelético adherido, etc).
4. Descripción del tumor: número, localización, tamaño (X x Y x Z en cm), forma, consistencia, color, encapsulación, cambios secundarios (degeneración quística, fibrosis, calcificación, hemorragia) y la distancia de los márgenes quirúrgicos y/o superficie de la cápsula tiroidea. Al especificar la delimitación (infiltrante vs bien delimitado), si el tumor está bien delimitado debe especificarse la presencia o ausencia de cápsula. Debería detallarse el espesor de la cápsula tumoral si es >0.1 cm (más sospecha de malignidad). En el caso de múltiples tumores, cada tumor se describirá por separado. La distribución de la hemorragia y/o el cambio quístico en un patrón lineal sugiere el trayecto de la aguja de punción.
5. Características del tejido tiroideo que rodea al tumor; tumor multicéntrico, tejido normal, lesión nodular o proceso difuso.
6. Número y la apariencia de la glándula(s) paratiroides, si procede. Pintar con tinta de diferentes colores cada lóbulo y el istmo facilita la localización histológica de las lesiones, pero previamente debería inspeccionarse la superficie externa de la glándula tiroidea para identificar glándulas paratiroides (generalmente en la superficie posterior) y ganglios linfáticos (habitualmente cerca del istmo).
7. Disección de los ganglios linfáticos, si están incluidos. Los ganglios linfáticos ipsilaterales, de la línea media y contralaterales deben documentarse por separado. Deberá especificarse:
 - El tipo de disección (radical, radical ampliada, radical modificada o selectiva).
 - La presencia, apariencia y dimensiones del músculo esternocleidomastoideo, vena yugular, glándula submandibular y/o glándula parótida.

La existencia de una masa palpable (solitaria o adherida).

El tamaño y la localización de la invasión tumoral macroscópica de los tejidos blandos, músculo y la vena yugular junto con los ganglios linfáticos afectados.

El tamaño de las masas ganglionares (las masas >3 cm de diámetro deben ser consideradas como ganglios confluentes o como extensión a tejidos blandos).

Debe informarse la extensión tumoral periganglionar (extracapsular).

Deberá registrarse también si se ha realizado fotografía macroscópica, congelado muestra (p. ej. para el Banco de Tumores), o incluido material para microscopía electrónica, etc.

En las muestras de tiroidectomía o lobectomía, tras una fotografía y pintar la superficie externa, el procedimiento más recomendable para el examen macroscópico es comenzar por una hemisección coronal de la pieza seguido por secciones transversales de 2 a 3 mm de espesor^{4,29}. Con este método, la primera hemisección da rápidamente una imagen panorámica de la lesión, ideal para la segunda fotografía y permite luego tras la fijación, realizar las secciones transversales de forma dirigida. Cuando existen 2 nódulos en un lóbulo, la sección coronal permite visualizar más fácilmente si se trata de un nódulo único irregular o de 2 nódulos independientes. En caso de 2 nódulos cercanos debería incluirse de forma seriada el área más próxima a los nódulos para demostrar la relación entre ambos. En lesiones multinodulares, cada nódulo bien delimitado y/o de apariencia diferente debe ser considerado, a efectos de evaluación, como si fuera un nódulo único; si no hay nódulos bien definidos es mejor seleccionar los de mayor tamaño y/o algo diferentes para incluirlos de la misma forma que si se tratase de un nódulo único. En el bocio difuso deberán incluirse principalmente las áreas heterogéneas (fibrosas, hiperémicas, etc).

El número de secciones incluidas para examen histológico puede variar en función de los recursos disponibles, el interés académico o la práctica privada. Como recomendación para el estudio microscópico fiable de las diferentes lesiones tiroideas, en la tabla 1 se detallan el número de bloques (casetes) que deberían incluirse para examen histológico^{4,29}. En las lesiones encapsuladas, la evaluación microscópica para detectar invasión capsular y/o vascular es esencial para distinguir entre adenoma y carcinoma^{14,30}. Por ello, con independencia del tamaño, idealmente, la cápsula tumoral entera debería ser remitida para examen histológico. Las secciones deberán ser perpendiculares a la cápsula tumoral (como los gajos de una naranja) para reducir los artefactos. Las lesiones pequeñas (≤ 20 mm de diámetro máximo) deben procesarse en su totalidad. Para reducir el número de bloques, cada sección debería incluir cápsula tumoral con una pequeña proporción (2 a 3 mm) de nódulo subyacente y del parénquima tiroideo adyacente; de esta forma pueden incluirse 2 o 3 secciones en cada casete (Figura 1). No obstante, la inclusión ideal puede no ser factible en algunos laboratorios y dado que se ha estimado que con 10 bloques se detectarían al menos el 97% de los carcinomas, se recomienda incluir un mínimo de 10 secciones, seleccionando especialmente las áreas de engrosamiento de la cápsula tumoral y con sospecha macroscópica de invasión^{25,31}. En los casos de carcinoma papilar es importante el muestreo del tejido tiroideo adyacente por la probabilidad de detectar otros focos de carcinoma que no son evidentes en el examen macroscópico.

III. DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

La tinción inmunohistoquímica con anticuerpos para tiroglobulina, calcitonina y el factor de transcripción tiroideo 1 (TTF-1) es generalmente suficiente para tipificar la estirpe de la mayoría de los tumores tiroideos^{3,4,14}. En los casos muy infrecuentes de carcinoma medular negativo para calcitonina, la detección del RNA mensajero de la calcitonina mediante hibridación in situ y/o la utilización de anticuerpos contra el péptido del gen relacionado con la calcitonina (CGRP) pueden ayudar al diagnóstico^{32,33}. Debido a la fácil difusión de la tiroglobulina, su determinación puede ser problemática en ocasiones, no obstante, la utilización adicional de anticuerpos para TTF-1, tiroperoxidasa, calcitonina, cromogranina y sinaptofisina suele ser suficiente para el diagnóstico. Se recomienda que el diagnóstico histológico de carcinoma medular sea confirmado mediante la positividad inmunohistoquímica para calcitonina¹⁴. Como con la tinción de hematoxilina-eosina puede ser difícil la identificación de la hiperplasia de células C, es mejor hacer el estudio en las áreas distantes al tumor utilizando la calcitonina¹⁴. Debido a las variaciones en la distribución de las células C en sujetos normales

parece razonable hablar de hiperplasia de células C, sólo cuando es bilateral y hay al menos 50 células C por campo microscópico de bajo aumento³⁴. En pacientes con riesgo de carcinoma medular, las muestras de tiroidectomía profiláctica deben ser incluidas en su totalidad y deberá realizarse la inmunotinción para calcitonina de todas aquellas lesiones sospechosas de ser hiperplasia de células C o carcinoma medular^{4,14}. Aunque se ha propuesto el uso marcadores inmunohistoquímicos (HBME-1, galectina-3, CITED1, CK19, TPO, etc.) para el diagnóstico diferencial de las neoplasias tiroideas, no existe ningún marcador aislado suficientemente sensible para proporcionar un diagnóstico definitivo de malignidad³⁵. El diagnóstico histomorfológico sigue siendo la piedra angular para clasificar las lesiones foliculares tiroideas^{14,35}.

El patrón de positividad nuclear para catenina- β es útil para confirmar el diagnóstico de las formas familiares y esporádicas de la variante cribiforme-morular de carcinoma papilar^{36,37}. En el contexto morfológico apropiado, la negatividad para la proteína PTEN en nódulos tiroideos sugiere descartar un síndrome tumor hamartoma-PTEN³⁸. El estudio inmunohistoquímico parece un método específico y sensible para la detección de la mutación *BRAF*^{V600E} en el carcinoma papilar y podría ser una alternativa rápida a las técnicas de biología molecular en la práctica diaria^{35,39}.

IV. DATOS MOLECULARES

La detección de la mutación somática del gen *BRAF*^{V600E} como marcador del pronóstico del carcinoma papilar es controvertido; no obstante, su determinación puede ser útil como diana terapéutica en carcinomas tiroideos agresivos que son refractarios al tratamiento con yodo radiactivo¹³. Estudios recientes indican que la mutación somática del promotor del gen *TERT* puede tener valor pronóstico para identificar los carcinomas tiroideos diferenciados de comportamiento más agresivo⁴⁰⁻⁴².

La determinación de reordenamientos *RET/PTC* en el carcinoma papilar y en algunos carcinomas de células de Hürthle con patrón de crecimiento sólido⁴³, así como la mutación somática de *RET* en el carcinoma medular avanzado constituyen marcadores predictivos de respuesta al tratamiento con inhibidores de *RET*⁴⁴. La determinación de mutaciones de *RET* en línea germinal es esencial para averiguar si se trata de un carcinoma medular de tipo familiar, lo cual es especialmente probable si hay hiperplasia de células C³⁴. Dicha determinación debe realizarse incluso en ausencia de historia familiar positiva¹.

En pacientes con la variante cribiforme-morular de carcinoma papilar tiroideo, especialmente en los casos multifocales y bilaterales, debería realizarse el estudio mutacional del gen *APC* en línea germinal para excluir una poliposis adenomatosa familiar³⁷. En el caso de múltiples nódulos tiroideos con negatividad inmunohistoquímica para la proteína PTEN debería realizarse el estudio mutacional del gen *PTEN* en línea germinal para excluir un síndrome tumor hamartoma *PTEN* (síndrome de Cowden y síndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba)⁴⁵⁻⁴⁷.

V. ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA

La estadificación patológica debe realizarse utilizando la clasificación TNM de la International Union Against Cancer/ American Joint Committee on Cancer (UICC/AJCC, 7ª edición)⁴⁸ (Tabla 2).

VI. INFORME DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

El informe anatomopatológico es esencial para el manejo postoperatorio del paciente. El formato sinóptico es más consistente, seguro, completo y fácil, en comparación con el estilo narrativo⁴⁹⁻⁵⁰. Además, el informe en formato sinóptico reduce el riesgo de errores de interpretación, es más rápido y facilita la comunicación e investigación^{49,50}. Se recomienda la transición del formato narrativo tradicional al formato sinóptico utilizando sistemas computerizados con menús desplegados que incluyan listas de validación predeterminadas⁵⁰. Entre tanto, para evitar errores u omisiones al realizar el informe anatomopatológico tradicional de tipo narrativo, el patólogo debería considerar los parámetros referidos en la lista de verificación propuesta en el anexo 1.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses. Este trabajo ha sido financiado parcialmente a través del proyecto PI12/00479 F.I.S.-FEDER (a JMC-T) del Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad.

Agradecimientos

Los autores agradecen la revisión y aprobación del presente artículo a los siguientes miembros del Club Ibérico de Patología Endocrina de la Sociedad Española de Anatomía Patológica: Teresa Aramendi Sánchez, Ignacio Arias-Camisón, M. Rosa Bella Cueto, Fco. Javier Caneiro Gómez, Neus Combalia Soriano, Luís Manuel Fernández Fernández, Silvia M. García Acuña, Mercedes Gómez Morales, Isabel Guerra Merino, Héctor Lázare Iglesias, Nuria Mancheño Franch, M. Dolores Martín Salvago, María Martino González, Pascual Meseguer García, Juan Luis Orradre Romeo, Andrés Pérez Barrios, Zulma S. Quintero Niño, M. Teresa Ribas Ariño, Teresa Rinaldi Catalá, Carlos Santonja Garriga, M. Nieves Saracibar Oyón, M. Pilar Troncoso Martínez y Jesús Alberto Veiga Barreiro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perros P, Boelaert K, Colley S, Evans C, Evans RM, Gerrard Ba G, Gilbert J, Harrison B, Johnson SJ, Giles TE, Moss L, Lewington V, Newbold K, Taylor J, Thakker RV, Watkinson J, Williams GR. Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;81 Suppl 1:1-122.
2. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. Recommended reporting format for thyroid carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2000;114:684-6.
3. Rosai J. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. 10th ed. Elsevier Inc., New York, USA, 2011.
4. Nikiforov YE, Diddinger PW, Thompson LDR(eds) *Diagnostic pathology and molecular genetics of the thyroid*. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2012.
5. Baloch ZW, LiVolsi VA, Asa SL, Rosai J, Merino MJ, Randolph G, Vielh P, DeMay RM, Sidawy MK, Frable WJ. Diagnostic terminology and morphologic criteria for cytologic diagnosis of thyroid lesions: a synopsis of the National Cancer Institute thyroid fine-needle aspiration state of the science conference. *Diagn Cytopathol*. 2008;36:425-37.
6. Alexander EK, Kennedy GC, Baloch ZW, Cibas ES, Chudova D, Diggans J, Friedman L, Kloos RT, LiVolsi VA, Mandel SJ, Raab SS, Rosai J, Steward DL, Walsh PS, Wilde JI, Zeiger MA, Lanman RB, Haugen BR. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med*. 2012;367:705-15.
7. Nikiforov YE, Steward DL, Robinson-Smith TM, Haugen BR, Kloppner JP, Zhu Z, Fagin JA, Falciglia M, Weber K, Nikiforova MN. Molecular testing for mutations in improving the fine-needle aspiration diagnosis of thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:2092-8.
8. Cantara S, Capezzone M, Marchisotta S, Capuano S, Busonero G, Toti P, Di Santo A, Caruso G, Carli AF, Brilli L, Montanaro A, Pacini F. Impact of proto-oncogene mutation detection in cytological specimens from thyroid nodules improves the diagnostic accuracy of cytology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:1365-9.
9. Nikiforov YE, Carty SE, Chiosea SI, Coyne C, Duvvuri U, Ferris RL, Gooding WE, Hodak SP, LeBeau SO, Ohori NP, Seethala RR, Tublin ME, Yip L, Nikiforova MN. Highly accurate diagnosis of cancer in thyroid nodules

- with follicular neoplasm/suspicious for a follicular neoplasm cytology by ThyroSeq v2 next-generation sequencing assay. *Cancer*. 2014;120:3627-34.
10. Le Mercier M, D'Haene N, De Nève N, Blanchard O, Degand C, Rorive S, Salmon I. Next-generation sequencing improves the diagnosis of thyroid FNA specimens with indeterminate cytology. *Histopathology*. 2015;66:215-24.
 11. Lloyd RV, Erickson LA, Casey MB, Lam KY, Lohse CM, Asa SL, Chan JK, DeLellis RA, Harach HR, Kakudo K, LiVolsi VA, Rosai J, Sebo TJ, Sobrinho-Simoes M, Wenig BM, Lae ME. Observer variation in the diagnosis of follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:1336-40.
 12. Elsheikh TM, Asa SL, Chan JK, DeLellis RA, Heffess CS, LiVolsi VA, Wenig BM. Interobserver and intraobserver variation among experts in the diagnosis of thyroid follicular lesions with borderline nuclear features of papillary carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:736-44.
 13. Soares P, Celestino R, Melo M, Fonseca E, Sobrinho-Simões M. Prognostic biomarkers in thyroid cancer. *Virchows Arch*. 2014;464:333-46.
 14. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004.
 15. Asioli S, Erickson LA, Righi A, Lloyd RV. Papillary thyroid carcinoma with hobnail features: histopathologic criteria to predict aggressive behavior. *Hum Pathol*. 2013;44:320-8.
 16. Lubitz CC, Economopoulos KP, Pawlak AC, Lynch K, Dias-Santagata D, Faquin WC, Sadow PM. Hobnail variant of papillary thyroid carcinoma: an institutional case series and molecular profile. *Thyroid*. 2014;24:958-65.
 17. Amacher AM, Goyal B, Lewis JS Jr, El-Mofty SK, Chernock RD. Prevalence of a hobnail pattern in papillary, poorly differentiated, and anaplastic thyroid carcinoma: a possible manifestation of high-grade transformation. *Am J Surg Pathol*. 2015;39:260-265.
 18. Eloy C, Cameselle-Teijeiro J, Vieira J, Teixeira MR, Cruz J, Sobrinho-Simões M. Carcinoma of the thyroid with Ewing/PNET family tumor elements: a tumor of unknown histogenesis. *Int J Surg Pathol*. 2014;22:579-81.
 19. Eloy C, Oliveira M, Vieira J, Teixeira MR, Cruz J, Sobrinho-Simões M. Carcinoma of the thyroid with ewing family tumor elements and favorable prognosis: report of a second case. *Int J Surg Pathol*. 2014;22:260-5.
 20. Gnemmi V, Renaud F, Do Cao C, Salleron J, Lion G, Wemeau JL, Copin MC, Carnaille B, Leteurtre E, Pattou F, Aubert S. Poorly differentiated thyroid carcinomas: application of the Turin proposal provides prognostic results similar to those from the assessment of high-grade features. *Histopathology*. 2014;64:263-73.
 21. Asioli S, Erickson LA, Righi A, Jin L, Volante M, Jenkins S, Papotti M, Bussolati G, Lloyd RV. Poorly differentiated carcinoma of the thyroid: validation of the Turin proposal and analysis of IMP3 expression. *Mod Pathol*. 2010;23:1269-78.
 22. Volante M, Collini P, Nikiforov YE, Sakamoto A, Kakudo K, Katoh R, Lloyd RV, LiVolsi VA, Papotti M, Sobrinho-Simoes M, Bussolati G, Rosai J. Poorly differentiated thyroid carcinoma: the Turin proposal for the use of uniform diagnostic criteria and an algorithmic diagnostic approach. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1256-64.

23. Dettmer M, Schmitt A, Steinert H, Moch H, Komminoth P, Perren A. Poorly differentiated oncocytic thyroid carcinoma: diagnostic implications and outcome. *Histopathology*. 2012;60:1045-51.
24. Dettmer M, Schmitt A, Steinert H, Haldemann A, Meili A, Moch H, Komminoth P, Perren A. Poorly differentiated thyroid carcinomas: how much poorly differentiated is needed? *Am J Surg Pathol*. 2011;35:1866-72.
25. Leteurtre E, Leroy X, Pattou F, Wacrenier A, Carnaille B, Proye C, Lecomte-Houcke M. Why do frozen sections have limited value in encapsulated or minimally invasive follicular carcinoma of the thyroid? *Am J Clin Pathol*. 2001;115:370-4.
26. Osamura RY, Hunt JL. Current practices in performing frozen sections for thyroid and parathyroid pathology. *Virchows Arch*. 2008;453:433-40.
27. Antic T, Taxy JB. Thyroid frozen section: supplementary or unnecessary? *Am J Surg Pathol*. 2013;37:282-6.
28. Cameselle-Teijeiro J. Biopsia intraoperatoria de tiroides. En: Gamboni E, Sánchez Marull R (ed). *Temas de actualización en citopatología: Biopsia y citología intraoperatoria*. Fascículo 9. SLAC: Sociedad Latinoamericana de Citopatología. Editorial Ascune Hnos. Buenos Aires; 2013, 3-11.
29. Rosai J. *Rosai and Ackerman's surgical pathology*. 9th ed. Mosby Elsevier Inc., Edinburgh, 2004.
30. Sobrinho-Simões M, Eloy C, Magalhães J, Lobo C, Amaro T. Follicular thyroid carcinoma. *Mod Pathol*. 2011;24 Suppl 2:S10-8.
31. Lang W, Georgii A, Stauch G, Kienzle E. The differentiation of atypical adenomas and encapsulated follicular carcinomas in the thyroid gland. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1980;385:125-41.
32. Nakazawa T, Cameselle-Teijeiro J, Vinagre J, Soares P, Rousseau E, Eloy C, Sobrinho-Simões M. C-cell-derived calcitonin-free neuroendocrine carcinoma of the thyroid: the diagnostic importance of CGRP immunoreactivity. *Int J Surg Pathol*. 2014;22:530-5.
33. Castelblanco E, Gallel P, Ros S, Gatus S, Valls J, De-Cubas AA, Maliszewska A, Yebra-Pimentel MT, Menarguez J, Gamallo C, Opocher G, Robledo M, Matias-Guiu X. Thyroid paraganglioma. Report of 3 cases and description of an immunohistochemical profile useful in the differential diagnosis with medullary thyroid carcinoma, based on complementary DNA array results. *Hum Pathol*. 2012;43:1103-12.
34. Matias-Guiu X, De Lellis R. Medullary thyroid carcinoma: a 25-year perspective. *Endocr Pathol*. 2014;25:21-9.
35. Liu H, Lin F. Application of immunohistochemistry in thyroid pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139:67-82.
36. Nakazawa T, Celestino R, Machado JC, Cameselle-Teijeiro JM, Vinagre J, Eloy C, Benserai F, Lameche S, Soares P, Sobrinho-Simões M. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma displaying poorly differentiated features. *Int J Surg Pathol*. 2013;21:379-89.
37. Cameselle-Teijeiro J, Menasce LP, Yap BK, Colaco RJ, Castro P, Celestino R, Ruíz-Ponte C, Soares P, Sobrinho-Simões M. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma: molecular characterization of a case with neuroendocrine differentiation and aggressive behavior. *Am J Clin Pathol*. 2009;131:134-42.

38. Barletta JA, Bellizzi AM, Hornick JL. Immunohistochemical staining of thyroidectomy specimens for PTEN can aid in the identification of patients with Cowden syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:1505-11.
39. Ilie MI, Lassalle S, Long-Mira E, Bonnetaud C, Bordone O, Lespinet V, Lamy A, Sabourin JC, Haudebourg J, Butori C, Guevara N, Peyrottes I, Sadoul JL, Bozec A, Santini J, Capper D, von Deimling A, Emile JF, Hofman V, Hofman P. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAF(V600E) mutation in papillary thyroid carcinoma: comparative analysis with three DNA-based assays. *Thyroid*. 2014;24:858-66.
40. Xing M, Liu R, Liu X, Murugan AK, Zhu G, Zeiger MA, Pai S, Bishop J. BRAF V600E and TERT promoter mutations cooperatively identify the most aggressive papillary thyroid cancer with highest recurrence. *J Clin Oncol*. 2014;32:2718-26.
41. Melo M, da Rocha AG, Vinagre J, Batista R, Peixoto J, Tavares C, Celestino R, Almeida A, Salgado C, Eloy C, Castro P, Prazeres H, Lima J, Amaro T, Lobo C, Martins MJ, Moura M, Cavaco B, Leite V, Cameselle-Teijeiro JM, Carrilho F, Carvalheiro M, Máximo V, Sobrinho-Simões M, Soares P. TERT promoter mutations are a major indicator of poor outcome in differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E754-65.
42. Wang N, Xu D, Sofiadis A, Höög A, Vukojević V, Bäckdahl M, Zedenius J, Larsson C. Telomerase-dependent and independent telomere maintenance and its clinical implications in medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E1571-9.
43. de Vries MM, Celestino R, Castro P, Eloy C, Máximo V, van der Wal JE, Plukker JT, Links TP, Hofstra RM, Sobrinho-Simões M, Soares P. RET/PTC rearrangement is prevalent in follicular Hürthle cell carcinomas. *Histopathology*. 2012;61:833-43.
44. Rajhbeharrysingh U, Taylor M, Milas M. Medical therapy for advanced forms of thyroid cancer. *Surg Clin North Am*. 2014;94:541-71. 1.
45. Laury AR, Bongiovanni M, Tille JC, Kozakewich H, Nosé V. Thyroid pathology in PTEN-hamartoma tumor syndrome: characteristic findings of a distinct entity. *Thyroid*. 2011;21:135-44.
46. Smith JR, Marqusee E, Webb S, Nose V, Fishman SJ, Shamberger RC, Frates MC, Huang SA. Thyroid nodules and cancer in children with PTEN hamartoma tumor syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:34-7.
47. Cameselle-Teijeiro J, Fachal C, Cabezas-Agrícola JM, Alfonsín-Barreiro N, Abdulkader I, Vega-Gliemmo A, Hermo JA. Thyroid pathology findings in Cowden syndrome. A clue for the diagnosis of the PTEN-hamartoma tumor syndrome. *Am J Clin Pathol*. 2015 (in press).
48. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. *AJCC Cancer staging handbook*. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010, 111-122.
49. Srigley JR, McGowan T, Maclean A, Raby M, Ross J, Kramer S, Sawka C. Standardized synoptic cancer pathology reporting: a population-based approach. *J Surg Oncol*. 2009;99:517-24.
50. Lam E, Vy N, Bajdik C, Strugnell SS, Walker B, Wiseman SM. Synoptic pathology reporting for thyroid cancer: a review and institutional experience. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2013;13:1073-9.

Tabla 1. Número de casetes recomendados para inclusión.

Bocio multinodular.	Deseable: 1 casete por cada 5 g de peso de la pieza, principalmente de áreas nodulares, con un máximo de 10 casetes por lóbulo y 2 de istmo (22 bloques de parafina en total). Mínimo: 1 casete por cada nódulo hasta 5 nódulos (5 bloques en total).
Bocio difuso.	Deseable: 1 casete por cada 5 g de peso de la pieza, principalmente de áreas heterogéneas, con un máximo de 10 casetes por lóbulo y 2 de istmo (22 bloques en total). Mínimo: 3 casetes por cada lóbulo y 1 de istmo (7 bloques en total).
Lesión sospechosa infiltrante o no encapsulada.	Si es ≤ 2 cm, hacer inclusión completa. Si es > 2 cm, 1 casete por cm de diámetro del tumor, principalmente de la interfase tumor-parénquima, las áreas heterogéneas y las zonas próximas a la cápsula tiroidea y/o margen quirúrgico.
Lesión única encapsulada.	Si es ≤ 2 cm, hacer inclusión completa. Si es > 2 cm: - Deseable: la cápsula entera con un mínimo de 0.5 cm de espesor para incluir la lesión, cápsula y el parénquima tiroideo adyacente. - Mínimo: 10 casetes de cápsula, principalmente de las zonas engrosadas, calcificadas, engrosadas y/o posible invasión.
Tiroides normal (sin lesión macroscópica ni historia de enfermedad oculta), p. ej. incidental en laringectomía.	1 casete por cm de longitud del lóbulo.
Tiroides sin lesión macroscópica pero con datos enfermedad oculta (p. ej. con metástasis ganglionar).	Deseable: incluir hasta que aparezca la lesión o inclusión total. Mínimo: 30 casetes.
Tiroidectomía profiláctica en casos de neoplasia endocrina múltiple tipo 2.	Deseable: inclusión total de la glándula. Mínimo: incluir los dos tercios superiores de cada lóbulo.

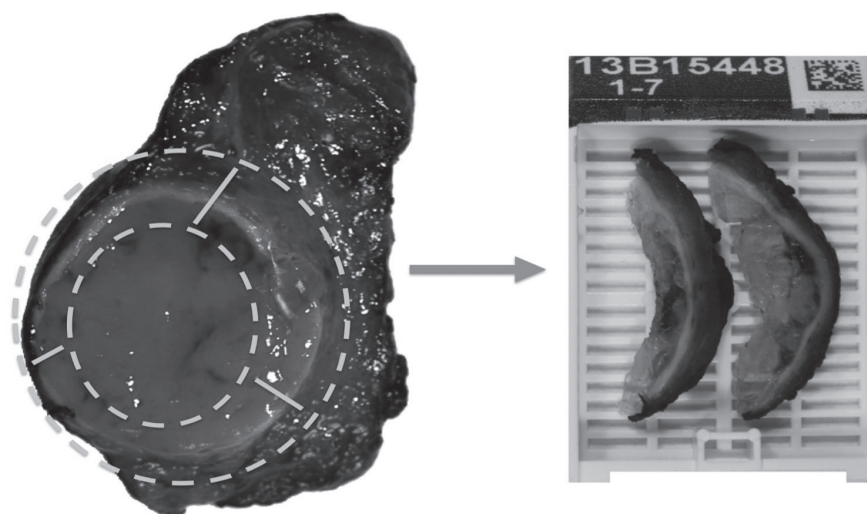


Figura 1. Representación de la selección de secciones de la cápsula tumoral incluyendo al menos 2 a 3 mm de tejido tumoral y parénquima tiroideo adyacente. Este procedimiento permite incluir dos o más secciones de la cápsula tumoral en un casete y economiza el muestreo de la lesión.

Tabla 2. Sistema de estadificación TNM de la UICC/AJCC para el carcinoma tiroideo (7ª edición).⁴⁸

T	Tumor primario	
T1	Tumor ≤2 cm de diámetro máximo limitado a la glándula tiroides	
T1a	Tumor ≤1 cm de diámetro máximo limitado a la glándula tiroides	
T1b	Tumor >1 cm pero ≤2 cm de diámetro máximo limitado a la glándula tiroides	
T2	Tumor >2 cm pero ≤4 cm de diámetro máximo limitado a la glándula tiroides	
T3	Tumor >4 cm de diámetro máximo limitado a la glándula tiroides o cualquier tumor con extensión extratiroidea mínima (p.ej., extensión a músculo esternotiroideo o a tejidos blandos peritiroideos)	
T4a*	Tumor de cualquier tamaño que se extiende mas allá de la cápsula tiroidea e invade los tejidos blandos subcutáneos, laringe, tráquea, esófago o nervio recurrente laríngeo	
T4b*	Tumor que invade la fascia prevertebral o engloba la arteria carótida o vasos mediastínicos	
N	Ganglios linfáticos regionales	
Nx	Los ganglios linfáticos regionales no pueden evaluarse	
N0	No metástasis en ganglios linfáticos regionales	
N1a	Metástasis en el nivel VI (ganglio/s linfático/s pretraqueal, paratraqueal y prelaríngeo/Delfiano)	
N1b	Metástasis a ganglios linfáticos cervicales unilaterales, bilaterales o contralaterales (niveles I, II, III, IV, o V) o a ganglios retrofaríngeos o del mediastino superior (nivel VII)	
M	Metástasis a distancia	
Mx	Las metástasis a distancia no pueden evaluarse	
M0	No metástasis a distancia	
M1	Presencia de metástasis a distancia	
Estadificación		
	Edad <45 años	Edad ≥45 años
	Estadio I	Estadio I
	Cualquier T, cualquier N, M0	T1, N0, M0
	Estadio II	Estadio II
	Cualquier T, cualquier N, M1	T2, N0, M0
		Estadio III
		T3, N0, M0
		T1, N1a, M0
		T2, N1a, M0
		T3, N1a, M0
		Estadio IV A
		T4a, N0, M0
		T4a, N1a, M0
		T1, N1b, M0
		T2, N1b, M0
		T3, N1b, M0
		T4a, N1b, M0
		Estadio IV B
		T4b, cualquier N, M0
		Estadio IV C
		Cualquier T, cualquier N, M1

* Todos los carcinomas anaplásicos de tiroides se consideran como T4 (T4a: carcinoma anaplásico intratiroideo; T4b: carcinoma anaplásico con extensión extratiroidea macroscópica)

Anexo 1. Formato sinóptico de informe anatomopatológico para cáncer de tiroides (lista de verificación).

Nº INFORME:

Nombre _____ Sexo: H M
Fecha de nacimiento _____ Historia Clínica _____ Servicio _____
Médico _____ Fecha de recepción _____ Fecha del informe _____
Datos clínicos _____
PAAF (Bethesda) _____ BAG _____

TIPO DE MUESTRA:

Fresca Fijada Intacta Seccionada Peso ____ g. Dimensiones: LD ____ LI ____ I ____ LP ____
Tiroidectomía total Tiroidectomía casi total* Hemitiroidectomía derecha Hemitiroidectomía izquierda
Istmectomía Biopsia de tiroides Biopsia/resección de metástasis (definir localización)
Muestras adicionales (p.ej.: disección ganglionar) (especificar)

LOCALIZACIÓN DEL CARCINOMA:

Lóbulo derecho Lóbulo izquierdo Istmo Otra** (especificar)
Nº de tumores ____ Único Múltiple (m) Bilateral (m) Tipos histológicos diferentes (especificar)
Tamaño del tumor ____ mm (el mayor si son múltiples)

TIPO DE CÁNCER:

Carcinoma papilar

Clásico

Variante folicular de carcinoma papilar (VFCP)

VFCP Encapsulado

No invasivo

Sólo invasión cápsular

Invasión vascular..... Presente Nº de vasos Dudosa No identificada

VFCP No encapsulado

VFCP Difusa/multinodular

Microcarcinoma papilar (pT1a):

Único Múltiple (m)*** Bilateral (m) Indicar el diámetro exacto del tumor ____ mm

Fibrosis desmoplásica Células altas Columnar Células en clavo (hobnail)

Invasión vascular Infiltración de la cápsula tiroidea Patrón infiltrativo (no encapsulado)

Hallazgo incidental

Otras variantes de CP (especificar)

Variante oncocítica

Con un componente minoritario pobremente diferenciado ($\geq 10\%$ pero $< 50\%$)

Cuerpos de psammoma Otras calcificaciones

Carcinoma folicular

Mínimamente invasivo

Sólo invasión cápsular

Invasión vascular..... Presente Nº de vasos Dudosa No identificada

Ampliamente invasivo

Invasión vascular..... Presente Nº de vasos Dudosa No identificada

Variante oncocítica

Con un componente minoritario pobremente diferenciado (no anaplásico) ($\geq 10\%$ pero $< 50\%$)

Carcinoma pobremente diferenciado (más del 50% del tumor es pobremente diferenciado)

Tipo insular Variante oncocítica

Se identifica componente diferenciado (especificar)

Carcinoma indiferenciado (anaplásico)

Se identifica componente diferenciado (especificar)

Carcinoma medular

Hiperplasia de células C Amiloide Calcificaciones

Otro tipo de neoplasia maligna (especificar)

Invasión vascular.....Presente Nº de vasos Dudosa No identificada

Extensión:

Confinado en la glándula tiroidea (intratiroideo)

Extensión extratiroidea mínima (microscópica) más allá de la cápsula tiroidea, pero sólo en tejidos blandos peritiroideos y esternotiroideo (pT3)

Extensión tumoral más allá de la cápsula tiroidea en tejidos blandos subcutáneos, larínge, esófago o nervio recurrente laríngeo; o un carcinoma anaplásico que no se extiende más allá de la cápsula tiroidea (pT4a)

Extensión tumoral más allá de la cápsula tiroidea en la fascia prevertebral, vasos mediastínicos o englobando la arteria carótida, o un carcinoma anaplásico que se extiende más allá de la cápsula tiroidea (pT4b)

Márgenes de resección

Libre de tumor (R0) Distancia mínima _____ mm Tumor microscópico en el margen (R1)

Tumor macroscópico en el margen (R2) Localización/es del margen/es infiltrado/s _____

Ganglios linfáticos

Número total de ganglios linfáticos identificados _____ Localización (derecha, izquierda, centro) _____

Ganglios linfáticos del nivel IV Nº total _____ Nº positivos _____ (pN1a)

Otros ganglios linfáticos (localización) Nº total _____ Nº positivos _____ (pN1b)

Diámetro del ganglio afectado de mayor tamaño _____ mm Extensión tumoral extraganglionar

Metástasis a distancia

Confirmación anatomopatológica (pM1) (especificar localización.....)

PATOLOGÍA SIGNIFICATIVA ADICIONAL:

Ninguna Adenoma (nº, localización y tamaño _____)

Hiperplasia nodular Tiroiditis linfocítica Tiroiditis de Hashimoto Otras (especificar)

GLÁNDULAS PARATIROIDES:

No Sí (especificar nº y localización.....)

Normal Anormal (especificar.....)

DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS:

Tiroglobulina Calcitonina TTF-1 Ki-67 _____ % Otros (especificar)

DATOS MOLECULARES:

BRAF RET/PTC RET TERT Otros (especificar)

Estadio: pT _____ pN _____ pM _____ R _____ SNOMED.....

Firma..... Fecha.....

* Debe indicarse en el informe si el tejido tiroideo es ectópico (mediastino, lingual, quiste tirogloso, teratoma).

** En caso de tiroidectomía subtotal indicar que lóbulo se extirpó de forma completa y cual se extirpó parcialmente.

*** En caso de microcarcinoma papilar múltiple especificar si es bilateral, el subtipo histológico de los tumores si hay más de uno y el diámetro del mayor.

Patología de las glándulas paratiroides. Propuesta para el manejo de las muestras y la elaboración del informe diagnóstico estandarizado.

Catarina Eloy¹, José Manuel Cameselle-Teijeiro²

¹ Instituto de Patología Molecular e Inmunología de la Universidad de Oporto (IPATIMUP), Oporto, Portugal.
E-mail: celoy@ipatimup.pt

² Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universitario, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela. España. Email: josemanuel.cameselle@usc.es

I. INTRODUCCIÓN

Esta guía contiene recomendaciones para el examen macroscópico y microscópico de lesiones tumorales y no tumorales de las glándulas paratiroides y la elaboración del informe final. En general, se recogen las directrices más ampliamente aceptadas¹. Algunas recomendaciones dependerán de las preferencias de cada institución y es previsible que ciertos datos hasta ahora opcionales, como p. ej. el estudio del gen *HRPT2* o la determinación de parafibromina en tumores paratiroides de potencial maligno incierto, puedan ser mandatorios en el futuro.

II. DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA E INCLUSIÓN

Las muestras de biopsia y de extirpación de las glándulas paratiroides suelen ser fragmentos frágiles y de pequeñas dimensiones que deben de manipularse con delicadeza para evitar artefactos.

Debe anotarse la localización precisa del espécimen y si se trata de una biopsia o de toda una glándula. Se especificará también la localización ectópica (p. ej. intratiroidea en el lóbulo derecho, mediastino anterior, retroesofágica o en la pared del esófago), si hay numerosos focos de tejido paratiroideo distribuidos por el cuello (p. ej. en la paratiromatosis), o si se trata de una muestra de tejido paratiroideo trasplantado, en la que los grupos epiteliales infiltrando el músculo esquelético pueden simular un carcinoma.

Debe detallarse si la muestra ha sido recibida en fresco o en fijación así como el tipo de fijador.

Al evaluar y describir la muestra¹ se especificará:

- El peso de la glándula (mg), retirando cuidadosamente la grasa de alrededor y otros tejidos acompañantes si fuera preciso. En las biopsias debería mencionarse, si es posible, el porcentaje de glándula resecada según las estimaciones del cirujano. En lesiones de aspecto infiltrativo se conservará la relación de la glándula con el tejido circundante para poder evaluar la posible invasión de tejidos blandos.

Aunque la extensión obvia del tejido paratiroideo a los tejidos blandos es uno de los marcadores más importantes de malignidad, este fenómeno puede ser simulado por cambios degenerativos.

- Tamaño en tres dimensiones. Aunque el tamaño es esencial para identificar una glándula patológica, en algunos adenomas ("microadenomas")² y en raros casos de hiperplasia ("oculta")³ el diagnóstico sólo puede hacerse en el examen histológico.
- Color y consistencia. Los adenomas oxifílicos (oncocíticos) suelen tener un color caoba. El aspecto adiposo puede ser dominante en el adenolipoma. La hiperplasia de células claras suele tener una apariencia achocolatada.
- Presencia de cápsula, cuya integridad nos permite reconocer una glándula como completa.
- Adherencia a otras estructuras. En el momento de la cirugía, el carcinoma de paratiroides suele estar rodeado por una reacción fibrosa e infiltrar estructuras adyacentes por lo que su resección suele ser difícil.
- La presencia de áreas quísticas, hemorragia, necrosis y nodularidad.

Especificar si se toman secciones congeladas (p.ej. para tinciones de lípidos como el rojo O oleoso, etc.), improntas citológicas, o muestras para microscopía electrónica (en glutaraldehído). En comparación con el tejido paratiroideo normal, el contenido lipídico citoplasmático es menor en las muestras de hiperplasia y adenoma, en consonancia con los rasgos de hiperfunción que muestran en el examen ultraestructural. No obstante, el número de resultados discordantes no hace fiable la utilización de tinciones como el rojo O oleoso o el Sudán negro en casos concretos¹.

También debe registrarse si se hacen fotografías macroscópicas y si se congela parte de la muestra para posibles estudios complementarios o de investigación.

Todo el tejido paratiroideo debería ser incluido para examen histológico, excepto en el caso de glándulas muy grandes y sin sospecha de malignidad en las que como mínimo deberían incluirse 3 casetes⁴. Deberá especificarse el tejido incluido en cada casete.

III. INFORMACIÓN DIAGNÓSTICA

La mayoría de las lesiones de las glándulas paratiroides son benignas, principalmente hiperplasias y adenomas; por el contrario, el carcinoma de paratiroides es responsable de menos del 1% de los casos de hiperparatiroidismo primario. Los tumores paratiroides deben ser diagnosticados de acuerdo con los criterios de la OMS⁵.

Típicamente, el adenoma de paratiroides es una lesión encapsulada y muy celular, que en más de la mitad de los casos muestra tejido paratiroideo normal comprimido en la periferia. Puede combinar varios tipos celulares y mostrar cierta variación en el tamaño nuclear, pero la actividad mitótica es nula o muy ocasional. La distinción entre hiperplasia y adenoma de paratiroides se basa, en parte, en la constatación de lesión benigna en varias glándulas (hiperplasia) o en una sola glándula (adenoma) y en la determinación precisa del peso de cada glándula. Es importante la descripción individualizada de los hallazgos morfológicos observados en cada glándula, teniendo como base el peso y la inclusión total de los productos de exéresis quirúrgica o biopsia. De hecho, se considera que la existencia de un anillo de tejido paratiroideo normal alrededor de la lesión y la presencia de una segunda glándula paratiroides microscópicamente normal son la mejor evidencia de que una lesión paratiroidea es un adenoma y no una hiperplasia^{1,5}. Los adenomas dobles son muy raros y su diagnóstico solo puede confirmarse con fiabilidad tras normalización de la calcemia postsquirúrgica de forma permanente. Tampoco es posible distinguir de forma fiable entre hiperplasia primaria o secundaria basándonos exclusivamente en la morfología¹.

La diferenciación entre lesión benigna y maligna de las glándulas paratiroides puede ser difícil en ausencia de metástasis. El carcinoma de paratiroides suele acompañarse de hiperparatiroidismo con cifras muy elevadas de PTH, así como enfermedad esquelética y/o renal. Hay muy pocos casos de carcinoma no funcional. A diferencia del adenoma, el carcinoma suele mostrar un patrón microscópico trabecular, bandas de fibrosis, células fusiformes, figuras de mitosis, invasión capsular e invasión vascular. Los indicadores de malignidad más importantes son la invasión vascular, la extensión evidente a los tejidos blandos

y las figuras de mitosis frecuentes¹. La clasificación de la OMS⁵ ha recomendado que el diagnóstico de carcinoma de paratiroides se limite a aquellas lesiones que muestran evidencia inequívoca de invasión perineural, invasión vascular o penetración total de la cápsula acompañada de crecimiento en los tejidos adyacentes y metástasis. La dificultad para hacer una extirpación quirúrgica completa por la invasión de los órganos y/o tejidos adyacentes es importante para el diagnóstico. Así, la evaluación de las zonas de interfase entre el tejido paratiroideo y el tejido circundante es fundamental para el diagnóstico de benignidad o malignidad. En aquellos casos con algunos rasgos de carcinoma sin evidencia clara de invasión se ha propuesto el término de adenoma atípico (neoplasia de paratiroides de dudoso potencial maligno)⁶. Al igual que en otros órganos, la localización exacta del tumor y el estado de los márgenes quirúrgicos debe ser incluido en el informe anatomopatológico.

En la actualidad, el uso de la inmunohistoquímica y la patología molecular ayudan en el diagnóstico diferencial entre lesiones benignas y malignas y son determinantes en la identificación de las lesiones que se desarrollan en contextos hereditarios (véase más adelante). Para que los resultados de las técnicas de inmunohistoquímica y de patología molecular sean fiables y reproducibles, deben controlarse las condiciones de conservación y fijación de las muestras. La cuantificación del ADN no es útil para diferenciar entre adenoma y carcinoma de paratiroides dado que algunos adenomas son aneuploides y algunos carcinomas euploides^{1,5,6}.

IV. DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS.

Las células paratiroides son positivas para citoqueratinas y PTH. La PTH es también positiva en la hiperplasia, el adenoma y en casi todos los carcinomas de paratiroides, siendo especialmente útil en casos de localización ectópica^{1,6}. La tinción para PTH es más intensa en el tejido paratiroideo normal que rodea al adenoma. La PTH permite distinguir una metástasis o infiltración por otros tumores. La cromogranina A es también positiva en la glándula paratiroides y puede ayudar al diagnóstico. En ciertos adenomas paratiroides, el patrón folicular con material de aspecto coloide puede simular tejido tiroideo, pero a diferencia de este último no hay cristales birrefringentes en la luz folicular⁷ ni reactividad para tiroglobulina y TTF-1⁵.

Aunque p53 es negativa en casos de hiperplasia, puede ser positiva en algunos adenomas con pleomorfismo nuclear⁸. La tinción para ciclina D1⁹ y galectina-3^{10,11} así como la pérdida de expresión de Rb¹² es muy común en carcinomas pero también se ha demostrado en mucha menor proporción en lesiones benignas. Aunque la tinción para p27 es positiva en las lesiones paratiroides benignas, se ha descrito negatividad en pacientes con neoplasia endocrina múltiple tipo 4 (MEN4), secundaria a la mutación germinal del gen *CDKN1B*, que codifica la proteína p27(kip1)^{13,14}.

La actividad proliferativa (mitosis, AgNOR y Ki67) es mayor en los carcinomas que en los adenomas, pero la superposición de valores en adenomas y carcinomas no permiten utilizarlo como indicador aislado de malignidad^{5,10,11,15-18}. Así, mientras que un índice de Ki-67 >5% sugiere carcinoma de paratiroides, un índice bajo no lo excluye.

La tinción para parafibromina, una proteína codificada por el gen *HRPT2(CDC73)*, es negativa en casi todos los carcinomas paratiroides y positiva en todos los adenomas excepto en aquellos asociados al síndrome hiperparatiroidismo-tumor de mandíbula^{11,19,20-24}. A pesar de los resultados discordantes⁶ atribuibles a los diferentes anticuerpos comerciales utilizados, diferentes metodologías y/o a los diferentes criterios de diagnóstico y evaluación, recientemente se ha propuesto que la parafibromina puede utilizarse como marcador de la mutación de *HRPT2*²⁰. Para ello se requiere la ausencia completa de tinción nuclear para parafibromina con presencia de positividad en células endoteliales y estromales (control interno positivo)²⁰⁻²³. Así evaluada, la parafibromina está siendo considerada un biomarcador de peor pronóstico en carcinomas paratiroides y un marcador de riesgo de recurrencia en tumores paratiroides atípicos que no cumplen totalmente criterios histológicos de malignidad (neoplasia de paratiroides de dudoso potencial maligno)^{20,23,25-27}.

Se ha postulado que el inmunofenotipo p27+, Bcl2+, Ki67-, mdm2+ es indicador de tumor paratiroideo no maligno²⁸. Más recientemente se ha indicado el uso de paneles de anticuerpos con PGP9.5, galectina-3, parafibromina, Bcl-2, Rb, p27 y/o Ki67^{24,29}, para el diagnóstico del carcinoma de paratiroides.

V. DATOS MOLECULARES

El gen *MEN1* codifica la proteína menina y su mutación germinal es responsable del síndrome de neoplasia múltiple tipo 1. Dicha mutación germinal está implicada en el desarrollo de la hiperplasia adenomatosa asimétrica (pseudoadenomatosa) de paratiroides^{5,30}, pero solo excepcionalmente se asocia a carcinoma paratiroideo³⁰. No obstante, casi un tercio de los adenomas de paratiroides tienen mutación somática del gen *MEN1*³¹⁻³⁴.

Aunque en la neoplasia endocrina múltiple tipo 2A (MEN2A) hay hiperplasia pseudoadenomatosa de la glándula paratiroides, no se ha detectado participación del gen *RET* en las neoplasias esporádicas de la glándula paratiroides⁵.

Se ha encontrado la traslocación del gen *CCND1* (*PRAD1*), con sobreexpresión de la ciclina D1, en adenomas de paratiroides³⁵, pero no en carcinomas ni asociado a síndromes de hiperparatiroidismo familiar³⁰. Sin embargo, existen diferentes mecanismos implicados en la expresión inmunohistoquímica de la ciclina D1 no solo en adenomas, si no también en casos de hiperplasia y carcinomas de paratiroides^{9,32}. Estudios más recientes han demostrado una mayor prevalencia de amplificación del gen *CCND1* en carcinomas que en adenomas (71% versus 21%)³⁶.

Las mutaciones germinales del gen *HRPT2* (*CDC73*) son responsables del síndrome hiperparatiroidismo-tumor de mandíbula (SHTM)⁵. En este síndrome hay hiperparatiroidismo primario por uno o dos adenomas no necesariamente sincrónicos (con frecuente cambio quístico)³⁷ y hasta un 15% de carcinomas de paratiroides³⁸. También se han descrito deleciones intragénicas de *HRPT2* a nivel germinal en casos de hiperparatiroidismo familiar aislado con adenomas y carcinomas de paratiroides³⁹. Mientras que en los adenomas esporádicos el porcentaje de mutaciones del gen *HRPT2*⁴⁰ es inferior al 1%, más del 70% de los carcinomas paratiroides esporádicos tienen mutaciones somáticas inactivadoras del gen *HRPT2*^{38,41}, por lo que la mutación de *HRPT2* apoya fuertemente el diagnóstico de carcinoma²⁰. Además, en todos los pacientes con carcinoma de paratiroides debería investigarse la mutación germinal de *HRPT2* dado que hasta un 20% de ellos tienen SHTM, incluso en ausencia de historia familiar^{38,42}.

VI. ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA

Aunque no existe una clasificación TNM de la International Union Against Cancer/ American Joint Committee on Cancer (UICC/AJCC) para el cáncer de paratiroides, se ha propuesto^{1,43} utilizar el sistema de estadificación patológica reflejado en la tabla 1.

VII. INFORME DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

El informe en formato sinóptico es más consistente, seguro, completo y fácil, en comparación con el estilo narrativo⁴⁴. Además, el formato sinóptico reduce el riesgo de errores de interpretación, es más rápido y facilita la comunicación e investigación^{44,45}. Se recomienda la transición del formato narrativo tradicional al formato sinóptico utilizando sistemas computerizados con menús desplegables que incluyan listas de validación predeterminadas. Entre tanto, para evitar errores u omisiones al realizar el informe anatomopatológico tradicional de tipo narrativo, el patólogo debería considerar los parámetros referidos en la lista de verificación propuesta en el anexo 1.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran que no hay conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen la revisión y aprobación del presente artículo a los siguientes miembros del Club Ibérico de Patología Endocrina de la Sociedad Española de Anatomía Patológica: Ihab Abdulkader Nallib, Teresa Aramendi Sánchez, Ignacio Arias-Camisón, M. Rosa Bella Cueto, Fco. Javier Caneiro Gómez, Neus Combalia Soriano, Luís Manuel Fernández Fernández, Silvia M. García Acuña, Mercedes Gómez Morales, Isabel Guerra Merino, Héctor Lázare Iglesias, Nuria Mancheño Franch, M. Dolores Martín Salvago, María Martino González, Pascual Meseguer García, Juan Luís Orradre Romeo, Andrés Pérez Barrios, Zulma S. Quintero Niño, M. Teresa Ribas Ariño, Teresa Rinaldi Catalá, Carlos Santonja Garriga, M. Nieves Saracibar Oyón, M. Pilar Troncoso Martínez y Jesús Alberto Veiga Barreiro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 10th ed. Elsevier Inc. , New York, USA, 2011.
2. Liechty RD, Teter A, Suba EJ. The tiny parathyroid adenoma. *Surgery*. 1986;100:1048-52.
3. Black WC, Haff RC. The surgical pathology of parathyroid chief cell hyperplasia. *Am J Clin Pathol*. 1970;53:565-79.
4. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 9th ed. Mosby , New York, USA, 2004.
5. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, editors. World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon: IARC Press; 2004.
6. DeLellis RA. Challenging lesions in the differential diagnosis of endocrine tumors: parathyroid carcinoma. *Endocr Pathol*. 2008;19:221-5.
7. Wong KS, Lewis JS Jr, Gottipati S, Chernock RD. Utility of birefringent crystal identification by polarized light microscopy in distinguishing thyroid from parathyroid tissue on intraoperative frozen sections. *Am J Surg Pathol*. 2014;38:1212-9.
8. Kishikawa S, Shan L, Ogihara K, Utsunomiya H, Nakamura M, Nakamura Y, Naito A, Kakudo K. Overexpression and genetic abnormality of p53 in parathyroid adenomas. *Pathol Int*. 1999;49:853-7.
9. Vasef MA, Brynes RK, Sturm M, Bromley C, Robinson RA. Expression of cyclin D1 in parathyroid carcinomas, adenomas, and hyperplasias: a paraffin immunohistochemical study. *Mod Pathol*. 1999;12:412-6.
10. Bergero N, De Pompa R, Sacerdote C, Gasparri G, Volante M, Bussolati G, Papotti M. Galectin-3 expression in parathyroid carcinoma: immunohistochemical study of 26 cases. *Hum Pathol*. 2005;36:908-14.
11. Wang O, Wang CY, Shi J, Nie M, Xia WB, Li M, Jiang Y, Guan H, Meng XW, Xing XP. Expression of Ki-67, galectin-3, fragile histidine triad, and parafibromin in malignant and benign parathyroid tumors. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125:2895-901.
12. Szijan I, Orlow I, Dalamon V, Vergani P, Danilowicz K, Mezzadri N, Cordon-Cardo C, Bruno OD. Alterations in the retinoblastoma pathway of cell cycle control in parathyroid tumors. *Oncol Rep*. 2000;7:421-5.
13. Georgitsi M. MEN-4 and other multiple endocrine neoplasias due to cyclin-dependent kinase inhibitors (p27(Kip1) and p18(INK4C)) mutations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24:425-37.

14. Pardi E, Mariotti S, Pellegata NS, Benfini K, Borsari S, Saponaro F, Torregrossa L, Cappai A, Satta C, Mastinu M, Marcocci C, Cetani F. Functional characterization of a CDKN1B mutation in a Sardinian kindred with multiple endocrine neoplasia type 4 (MEN4). *Endocr Connect.* 2014. pii: EC-14-0116.
15. Tuccari G, Abbona GC, Guiffirè G, Papotti M, Gasparri G, Barresi G, Bussolati G. AgNOR quantity as a prognostic tool in hyperplastic and neoplastic parathyroid glands. *Virchows Arch.* 2000;437:298-303.
16. Erickson LA, Jin L, Wollan P, Thompson GB, van Heerden JA, Lloyd RV. Parathyroid hyperplasia, adenomas, and carcinomas: differential expression of p27Kip1 protein. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:288-95.
17. Erickson LA, Jin L, Papotti M, Lloyd RV. Oxyphil parathyroid carcinomas: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 10 cases. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:344-9.
18. Vargas MP, Vargas HI, Kleiner DE, Merino MJ. The role of prognostic markers (MiB-1, RB, and bcl-2) in the diagnosis of parathyroid tumors. *Mod Pathol.* 1997;10:12-7.
19. Tan MH, Morrison C, Wang P, Yang X, Haven CJ, Zhang C, Zhao P, Tretiakova MS, Korpi-Hyovalti E, Burgess JR, Soo KC, Cheah WK, Cao B, Resau J, Morreau H, Teh BT. Loss of parafibromin immunoreactivity is a distinguishing feature of parathyroid carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10:6629-37.
20. Gill AJ. Understanding the genetic basis of parathyroid carcinoma. *Endocr Pathol.* 2014;25:30-4.
21. Gill AJ, Clarkson A, Gimm O, Keil J, Dralle H, Howell VM, Marsh DJ. Loss of nuclear expression of parafibromin distinguishes parathyroid carcinomas and hyperparathyroidism-jaw tumor (HPT-JT) syndrome-related adenomas from sporadic parathyroid adenomas and hyperplasias. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:1140-9.
22. Howell VM, Gill A, Clarkson A, Nelson AE, Dunne R, Delbridge LW, Robinson BG, Teh BT, Gimm O, Marsh DJ. Accuracy of combined protein gene product 9.5 and parafibromin markers for immunohistochemical diagnosis of parathyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:434-41.
23. Kruijff S, Sidhu SB, Sywak MS, Gill AJ, Delbridge LW. Negative parafibromin staining predicts malignant behavior in atypical parathyroid adenomas. *Ann Surg Oncol.* 2014;21:426-33.
24. Truran PP, Johnson SJ, Bliss RD, Lennard TW, Aspinall SR. Parafibromin, galectin-3, PGP9.5, Ki67, and cyclin D1: using an immunohistochemical panel to aid in the diagnosis of parathyroid cancer. *World J Surg.* 2014;38:2845-54.
25. Sarquis MS, Silveira LG, Pimenta FJ, Dias EP, Teh BT, Friedman E, Gomez RS, Tavares GC, Eng C, De Marco L. Familial hyperparathyroidism: surgical outcome after 30 years of follow-up in three families with germline HRPT2 mutations. *Surgery.* 2008;143:630-40.
26. Witteveen JE, Hamdy NA, Dekkers OM, Kievit J, van Wezel T, Teh BT, Romijn JA, Morreau H. Downregulation of CASR expression and global loss of parafibromin staining are strong negative determinants of prognosis in parathyroid carcinoma. *Mod Pathol.* 2011;24:688-97.
27. Cetani F, Banti C, Pardi E, Borsari S, Viacava P, Miccoli P, Torregrossa L, Basolo F, Pelizzo MR, Rugge M, Pennelli G, Gasparri G, Papotti M, Volante M, Vignali E, Saponaro F, Marcocci C. CDC73 mutational status and loss of parafibromin in the outcome of parathyroid cancer. *Endocr Connect.* 2013;2:186-95.

28. Stojadinovic A, Hoos A, Nissan A, Dudas ME, Cordon-Cardo C, Shaha AR, Brennan MF, Singh B, Ghossein RA. Parathyroid neoplasms: clinical, histopathological, and tissue microarray-based molecular analysis. *Hum Pathol.* 2003;34:54-64.
29. Erovic BM, Harris L, Jamali M, Goldstein DP, Irish JC, Asa SL, Mete O. Biomarkers of parathyroid carcinoma. *Endocr Pathol.* 2012;23:221-31.
30. Sharretts JM, Simonds WF. Clinical and molecular genetics of parathyroid neoplasms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010;24:491-502.
31. Shih RY, Fackler S, Maturo S, True MW, Brennan J, Wells D. Parathyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia type 1 with a classic germline mutation. *Endocr Pract.* 2009;15:567-72.
32. Alvelos MI, Mendes M, Soares P. Molecular alterations in sporadic primary hyperparathyroidism. *Genet Res Int.* 2011;2011:275802.
33. Alvelos MI, Vinagre J, Fonseca E, Barbosa E, Teixeira-Gomes J, Sobrinho-Simões M, Soares P. MEN1 intragenic deletions may represent the most prevalent somatic event in sporadic primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2012;168:119-28.
34. Cromer MK, Starker LF, Choi M, Udelsman R, Nelson-Williams C, Lifton RP, Carling T. Identification of somatic mutations in parathyroid tumors using whole-exome sequencing. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E1774-81.
35. Yi Y, Nowak NJ, Pacchia AL, Morrison C. Chromosome 11 genomic changes in parathyroid adenoma and hyperplasia: array CGH, FISH, and tissue microarrays. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008;47:639-48.
36. Zhao L, Sun LH, Liu DM, He XY, Tao B, Ning G, Liu JM, Zhao HY. Copy number variation in CCND1 gene is implicated in the pathogenesis of sporadic parathyroid carcinoma. *World J Surg.* 2014;38:1730-7.
37. Mallette LE, Malini S, Rappaport MP, Kirkland JL. Familial cystic parathyroid adenomatosis. *Ann Intern Med.* 1987;107:54-60.
38. Shattuck TM, Välimäki S, Obara T, Gaz RD, Clark OH, Shoback D, Wierman ME, Tojo K, Robbins CM, Carpten JD, Farnebo LO, Larsson C, Arnold A. Somatic and germ-line mutations of the HRPT2 gene in sporadic parathyroid carcinoma. *N Engl J Med.* 2003;349:1722-9.
39. Korpi-Hyövälti E, Cranston T, Ryhänen E, Arola J, Aittomäki K, Sane T, Thakker RV, Schalin-Jäntti C. CDC73 intragenic deletion in familial primary hyperparathyroidism associated with parathyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99:3044-8.
40. Krebs LJ, Shattuck TM, Arnold A. HRPT2 mutational analysis of typical sporadic parathyroid adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5015-7.
41. Howell VM, Haven CJ, Kahnoski K, Khoo SK, Petillo D, Chen J, Fleuren GJ, Robinson BG, Delbridge LW, Philips J, Nelson AE, Krause U, Hammje K, Dralle H, Hoang-Vu C, Gimm O, Marsh DJ, Morreau H, Teh BT. HRPT2 mutations are associated with malignancy in sporadic parathyroid tumours. *J Med Genet.* 2003;40:657-63.

42. Cetani F, Pardi E, Borsari S, Viacava P, Dipollina G, Cianferotti L, Ambrogini E, Gazzero E, Colussi G, Berti P, Miccoli P, Pinchera A, Marcocci C. Genetic analyses of the HRPT2 gene in primary hyperparathyroidism: germline and somatic mutations in familial and sporadic parathyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:5583-91.
43. Shaha AR, Shah JP. Parathyroid carcinoma: a diagnostic and therapeutic challenge. *Cancer.* 1999;86:378-80.
44. Srigley JR, McGowan T, Maclean A, Raby M, Ross J, Kramer S, Sawka C. Standardized synoptic cancer pathology reporting: a population-based approach. *J Surg Oncol.* 2009;99:517-24.
45. Lam E, Vy N, Bajdik C, Strugnell SS, Walker B, Wiseman SM. Synoptic pathology reporting for thyroid cancer: a review and institutional experience. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2013;13:1073-9.

Tabla 1. Sistema de estadificación para el carcinoma de paratiroides.

T		Tumor primario
	T1	Tumor ≤ 3 cm de diámetro máximo
	T2	Tumor > 3 cm de diámetro máximo
	T3	Tumor de cualquier tamaño con invasión de los tejidos blandos circundantes, tales como la glándula tiroides, planos musculares, etc.
	T4	Enfermedad masiva del compartimento central que invade la tráquea y esófago, o carcinoma de paratiroides recidivante
N		Ganglios linfáticos regionales
	Nx	Los ganglios linfáticos regionales no pueden evaluarse
	N0	No hay metástasis en ganglios linfáticos regionales
	N1	Metástasis en ganglio/s linfático/s regionales
M		Metástasis a distancia
	Mx	Las metástasis a distancia no pueden evaluarse
	M0	No hay evidencia de metástasis a distancia
	M1	Evidencia de metástasis a distancia

Estadificación

Estadio I	T1 N0 M0
Estadio II	T2 N0 M0
Estadio IIIA	T3 N0 M0
Estadio IIIB	T4 N0 M0
Estadio IIIC	Cualquier T, N1 M0
Estadio IV	Cualquier T, cualquier N, M1

Anexo 1. Formato sinóptico de informe anatomopatológico para lesiones de las glándulas paratiroides (lista de verificación).

Nº INFORME:

Nombre _____ Sexo: H M
 Fecha de nacimiento _____ Historia Clínica _____ Servicio _____
 Médico _____ Fecha de recepción _____ Fecha del informe _____

DATOS CLÍNICOS:

Sin datos Dificultad en la resección quirúrgica PTH sérica _____ Ca²⁺ sérico _____
 Historia familiar de tumores endocrinos (especificar)
 Síndrome de neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN1)
 Síndrome de hiperparatiroidismo y quistes de mandíbula
 Antecedentes de radioterapia en cuello Otros datos (especificar)
 Diagnóstico preoperatorio _____
 Diagnóstico intraoperatorio _____

1. CONDICIONES DE LA MUESTRA(S):

Preservación: Tejido fresco En formol Otro (especificar)
 Tiempo de isquemia fría: ____ horas Desconocido
 Integridad de la muestra: Intacta(s) Fragmentada(s)
 Referencia: Presente (especificar) Ausente

2. LOCALIZACIÓN Y TIPO DE MUESTRA(S):

Paratiroides superior derecha	<input type="checkbox"/> Biopsia incisional	<input type="checkbox"/> Paratiroidectomía
Paratiroides superior izquierda	<input type="checkbox"/> Biopsia incisional	<input type="checkbox"/> Paratiroidectomía
Paratiroides inferior derecha	<input type="checkbox"/> Biopsia incisional	<input type="checkbox"/> Paratiroidectomía
Paratiroides inferior izquierda	<input type="checkbox"/> Biopsia incisional	<input type="checkbox"/> Paratiroidectomía

Otra localización (especificar)
 Tejido paratiroideo trasplantado (especificar)
 Ganglios linfáticos Número total _____ Localización (especificar)

3. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA(S) (especificar para cada glándula):

Peso _____ mg Dimensiones ____ x ____ x ____ mm Color y consistencia (especificar)
 Superficie externa: Lisa Adherida a estructuras adyacentes (especificar)
 Sección de corte: Homogénea Uninodular (diámetro ____ mm) Multinodular Otros (especificar)
 Adherida a estructuras adyacentes (especificar)
 Número total de casetes _____ Inclusión total Inclusión parcial (especificar)

4. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO (especificar para cada glándula):

Hiperplasia Hiperplasia/Adenoma
 Adenoma Adenoma oxifílico Lipoadenoma Adenoma atípico
 Carcinoma
 Patrón de crecimiento: Infiltrativo Expansivo Multinodular Trabecular Otro (especificar)
 Predominio de células oncocíticas: Sí No No se evalúa
 Predominio de células fusiformes: Sí No No se evalúa
 Bandas de fibrosis: Sí No No se evalúa
 Invasión linfovascular: Sí No No se evalúa
 Infiltración de tejidos blandos: Sí No No se evalúa

Infiltración de otros órganos: Si (especificar) No No se evalúa
Márgenes quirúrgicos: Libres (distancia mínima ____ mm) Infiltrados (especificar)
Afectación ganglionar:
 Si, hay _____ de ganglios positivos de un total de _____ ganglios linfáticos aislados
 No, no se evidencia afectación en los _____ ganglios linfáticos aislados
 No se evalúa

Estadio (edición _____): pT ____ pN ____ pM ____ R ____ SNOMED.....

Otros hallazgos:
 Quiste paratiroideo Metástasis (especificar.....) Otros (especificar)

DATOS INMUNOHISTOQUÍMICOS (expresión):

PTH: Positivo Negativo No concluyente No evaluado
Ki-67: ____ % No concluyente No evaluado
Parafibrina: Positivo Negativo No concluyente No evaluado
p27: Positivo Negativo No concluyente No evaluado
Otros (especificar) Positivo Negativo No concluyente No evaluado
 No realizado

DATOS MOLECULARES (mutación):

MEN1: Positivo (especificar) Negativo No concluyente No evaluado
HRPT2: Positivo (especificar) Negativo No concluyente No evaluado
CCND1: Positivo (especificar) Negativo No concluyente No evaluado
Otro (s): Positivo (especificar) Negativo No concluyente No evaluado
 No realizado

Comentario(s): _____
Firma..... Fecha.....

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE GINECOPATOLOGÍA DE LA SEAP

Introducción

Rosa Guarch Troyas

Correspondencia: rosa.guarch.troyas@cfnavarra.es

La realización de protocolos o guías anatomoclínicas de cáncer ginecológico que ahora se presentan, constituye la actualización de un trabajo realizado por miembros del club de patología ginecológica publicado hace más de 10 años.

Estas guías están dirigidas a los patólogos, tanto generales como a los dedicados a la patología ginecológica, y se conciben como una herramienta muy útil para lograr la estandarización de un diagnóstico que integra, tanto datos clínicos, como morfológicos, inmunohistoquímicos y moleculares. Pero al mismo tiempo que se conciben como un instrumento para el diagnóstico, en el sentido de seguir instrucciones y aportación de datos comunes ("check list"), hay que resaltar y dejar claro, que no deben sustituir al acto de pensamiento en el diagnóstico.

Estos protocolos se conciben como guías de actuación útiles para la práctica diaria y se han obtenido con un alto grado de consenso entre los profesionales, pero su alcance y contenido varía de unas a otras. Las guías que ahora se presentan corresponden a las siguientes áreas: cáncer de vulva, cáncer de cérvix, prevención de cáncer de cuello uterino, endometrio, sarcomas uterinos y ovario, trompa de falopio y peritoneo.

Algunas de ellas, incluyen protocolos de inclusión de la pieza quirúrgica, otras más resumidas, contienen únicamente elementos de consenso. La de prevención de cáncer de cuello uterino, basada en algoritmos correspondientes a las recomendaciones y conducta ante resultados anormales de cribado de cáncer de cervix. Todas ellas recomiendan la realización del diagnóstico lo más preciso posible (los mínimos imprescindibles), que deben figurar en un informe de anatomía patológica, incluidos preferentemente los que contengan aquellos datos de significación pronóstica, fundamentales para el tratamiento posterior de los pacientes.

Por último mi agradecimiento sincero a los participantes, miembros del club de patología ginecológica, por su esfuerzo desinteresado y su rápida contestación que han hecho posible la presentación de estas guías, así como especialmente a la doctora Isabel Guerra por su apoyo y dedicación, y a la SEAP por su trabajo de promoción, edición y difusión.

GUÍAS ANATOMOCLINICAS DE CÁNCER GINECOLÓGICO

ÍNDICE

- INTRODUCCIÓN
- PATOLOGÍA NEOPLÁSICA DE LA VULVA
- GUÍA DE CERVIX UTERINO
- GUÍA DE PREVENCIÓN DE CÁNCER DE CUELLO DE UTERO
- GUÍA DE CÁNCER DE ENDOMETRIO
- INFORME DE SARCOMAS UTERINOS

Patología Neoplásica de la Vulva

Angel García, Josep Castellví

Hospital Vall d'Hebron. UAB, Barcelona

I. TIPOS DE CARCINOMA y CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES DE VULVA

Tabla 1. Tipos Histológicos de los tumores de vulva:

TUMORES EPITELIALES:

Tumores escamosos, tumores relacionados y precursores

- *Neoplasia escamosa intraepitelial / Neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) 3/ Carcinoma in situ de células escamosas*
- *Carcinoma de células escamosas sin otra especificación*
 - Queratinizante, diferenciado o tipo simple
 - No queratinizante
 - Basaloide
 - Condilomatoso o Bowenoide
 - Verrucoso o condiloma gigante de Buschke-Lowenstein
 - Queratoacantoma-like
 - Variante con células tumorales gigantes
 - Otros
- *Carcinoma basocelular*
- *Lesiones escamosas benignas:*
 - Condiloma acuminado
 - Papiloma vestibular
 - Queratosis seborreica
 - Queratoacantoma

Tumores glandulares

- *Enfermedad de Paget*
- *Tumores de glándula de Bartholino*
 - Adenocarcinoma
 - Carcinoma de células escamosas
 - Carcinoma adenoide quístico
 - Carcinoma adenoescamoso
 - Carcinoma de células transicionales

- Carcinoma de células pequeñas
- *Tumores procedentes de glándulas anogenitales similares a las mamas*
 - Adenocarcinoma de tipo mamario
 - Tumor Filodes maligno
- *Adenocarcinoma de la glándula de Skene*
- *Adenocarcinomas de glándulas sudoríparas*
- *Adenocarcinoma de tipo intestinal*

Tumores benignos y quistes:

- Hidradenoma papilar
- Tumor mixto
- Fibroadenoma
- Adenoma
- Adenomioma
- Quiste de glándula Bartholino
- Hiperplasia nodular de glándula de Bartholino
- Otros quistes de glándulas vestibulares
- Otros quistes

Tumores Neuroendocrinos

- *Carcinoma neuroendocrino de alto grado*
 - Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña
 - Carcinoma neuroendocrino de célula grande
- *Tumor de Células de Merkel*

TUMORES NEUROECTODÉRMICOS

- *Sarcoma de Ewing*

TUMORES DE PARTES BLANDAS

- *Tumores Benignos*
 - Lipoma
 - Pólipo fibroepitelial estromal
 - Angiomixoma superficial
 - Miofibroblastoma superficial
 - Angiofibroma celular
 - Angiomiofibroblastoma
 - Angiomixoma agresivo
 - Leiomioma
 - Tumor de células granulares
 - Otros tumores benignos
- *Tumores Malignos*
 - Rabdomyosarcoma
 - a) Embrionario
 - b) Alveolar
 - Leiomyosarcoma
 - Sarcoma epiteliode
 - Sarcoma alveolar de partes blandas
 - Otros Sarcomas:
 - a) Liposarcoma

- b) Tumor maligno de vaina de nervio periférico
- c) Sarcoma de Kaposi
- d) Fibrosarcoma
- e) Dermatofibrosarcoma protuberans

TUMORES MELANOCÍTICOS:

- *Nevus melanocítico*
 - a) Nevus melanocítico congénito
 - b) Nevus melanocítico adquirido
 - c) Nevus azul
 - d) Nevus melanocítico de tipo genital atípico
 - e) Nevus melanocítico displásico
- *Melanoma maligno*

TUMORES GERMINALES:

- *Tumor del seno endodérmico*

TUMORES LINFOIDES Y MIELOIDES:

- *Linfomas*
- *Neoplasias Mieloides*

TUMORES SECUNDARIOS

Referente a la histología, el carcinoma de células escamosas es el tumor maligno más frecuente, representando cerca del 90% de todos los cánceres primarios de la vulva, del que se distinguen principalmente dos formas diferenciadas atendiendo a presentación y posible relaciones etiológicas (tabla 2).

Tabla 2. Tipos de Carcinoma escamoso de la vulva:

	BASALIOIDE y OTROS	DIFERENCIADO
EDAD	Jóvenes (<55 años)	Mayores (7ª década)
Asociación VPH	Frecuente; HPV 16, 18 (alto riesgo)	Raro; en ocasiones HPV 5, 6 (bajo riesgo)
Asociación con VIN	Frecuente. Tipo Basaloide. Baja frecuencia de infiltración.	Raro. Tipo Bien diferenciado. Frecuente evolución a infiltración.
Incidencia	20 % y en aumento	80% Estable
Subtipos histológicos más frecuentes	Condilomatoso y basaloide	Escamoso bien diferenciado, queratinizante
Frecuencia de afectación vaginal y cervical	Mayor	Menor
Asociación a liquen escleroso y distrofas	Raro	Frecuente
Mutación P16	Frecuente	Rara
Mutación P53	Rara	Frecuente

- Existen diversas variantes histológicas del carcinoma de células escamosas de entre las que destacan:
- Carcinoma escamoso queratinizante, bien diferenciado.** Es el más frecuente. Aparece como lesión única en uno de los labios en mujeres postmenopáusicas. Puede asociarse a lesiones preinvasoras de la vecindad y a liquen, en las que a menudo se encuentran mutaciones de p53.
 - Carcinoma escamoso basaloide.** Constituido por nódulos, usualmente de menor tamaño que la variante queratinizante, y no son raras las formas multifocales. Aparece en mujeres jóvenes habiendo una relación directa con la infección previa de HPV, especialmente con serotipos de alto riesgo como el 16.
 - Carcinoma escamoso no queratinizante fusocelular,** caracterizado por su escasa o nula diferenciación queratínica y más indiferenciado.
 - Carcinoma escamoso de tipo condilomatoso o Bowenoide.** Es un tumor propio de mujeres jóvenes, asociado a infecciones de HPV 16, 18 y 33. Aparece como grandes lesiones polipoides de superficie es verrugosa, asemejándose al carcinoma verrucoso. En el estrato escamoso presenta células individualizadas con atipia coilocítica. A diferencia del carcinoma verrucoso pueden existir focos de invasión más allá de la basal. El pronóstico es ligeramente peor que el carcinoma verrucoso pero mejor que la variante queratinizante, bien diferenciada.
 - Carcinoma escamoso de tipo verrucoso o condiloma gigante de Buschke-Lowenstein.** Conocido también como carcinoma de Ackerman. Es un carcinoma escamoso extraordinariamente bien diferenciado. Aparece en forma de masas polipoides verrugosas, de base amplia, asociadas frecuentemente a infecciones de HPV tipo 1, 2, 6, 11 y 18.
 - Carcinoma escamoso similar al queratoacantoma,** variedad rara de carcinoma escamoso queratinizante muy bien diferenciado que aparece en los labios en mujeres de edades avanzadas.
 - Carcinoma escamoso con células gigantes,** variedad extremadamente rara de carcinoma escamoso acompañado de células gigantes que pueden confundirse con un melanoma maligno.

Tabla 3: ESTADIO FIGO DEL CÁNCER DE VULVA:

ESTADIO	DESCRIPCIÓN
0	Carcinoma in situ (carcinoma preinvasivo o VIN III)
I	Tumor limitado a vulva o vulva y perineo sin metástasis ganglionares
IA	Lesiones ≤ 2 cm con invasión estromal ≤ 1,0 mm*
IB	Lesiones > 2 cm o con invasión estromal >1,0 mm*
II	Tumor de cualquier tamaño con extensión a las estructuras perineales adyacentes (1/3 inferior de uretra, 1/3 inferior vagina, ano) con ganglios negativos
III	Tumor de cualquier tamaño con o sin extensión a las estructuras perineales adyacentes (1/3 inferior de uretra, 1/3 inferior vagina, ano) con ganglios inguino-femorales positivos
IIIA	(i) Con 1 ganglio linfático metastático (≥ 5 mm)
IIIB	(ii) 1-2 ganglio(s) linfático(s) metastático(s) (< 5 mm).
IIIC	(i) Con 2 ó más ganglios linfáticos metastáticos (≥5mm) (ii) 3 ó más ganglios linfáticos metastáticos (<5mm) Con ganglios positivos con extensión extracapsular
IV	Tumor que invade otras estructuras regionales (2/3 superiores uretra, 2/3 superiores vagina), o a distancia
IVA	Tumor invade cualquiera de las siguientes:
IVB	(i) mucosa de uretra superior, mucosa vaginal superior, mucosa vesical, mucosa rectal o está fijo a hueso pélvico (ii)Ganglios inguino-femorales fijados o ulcerados Cualquier metástasis a distancia incluyendo ganglios linfáticos pélvicos

* La profundidad de la invasión se define como la medida del tumor desde la unión epitelio-estroma o la papila dérmica más superficial adyacente y el punto más profundo de invasión.

Tabla 4: CLASIFICACIÓN TNM y EQUIVALENCIAS CON FIGO:

Tumor primario (T)

- TX No se puede evaluar el tumor primario.
- T1 Lesiones ≤ 2 cm de diámetro, localizadas en vulva o periné y con invasión estromal ≤ 0.1 cm*.
- T2 Lesiones > 2 cm de diámetro o de cualquier tamaño con invasión estromal >0.1 cm, localizadas en vulva o periné.
- T3 Lesiones de cualquier tamaño con extensión a estructuras perineales adyacentes (1/3 distal de uretra, 1/3 distal de vagina, afectación anal).
- T4 Tumores que infiltran alguna de estas estructuras: 2/3 proximales de uretra, 2/3 proximales de vagina, mucosa vesical, mucosa rectal o fijado al hueso pélvico.

Ganglios linfáticos regionales (N)

- NX No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales.
- N0 No hay metástasis en ganglios linfáticos regionales.
- N1 Metástasis en 1-2 ganglios linfáticos < 0.5 cm o metástasis en un ganglio linfático ≥ 0.5 cm.
- N2 Metástasis en 3 o más ganglios linfáticos < 0.5 cm o metástasis en 2 o más ganglios linfáticos ≥ 0.5 cm.
- N3 Metástasis en ganglio/s linfático/s con extensión extra capsular.
- N4 Ganglios linfáticos inguino-femorales fijados o ulcerados.

Metástasis a distancia (M)

- M0 No hay metástasis
- M1 Metástasis a distancia (incluyendo metástasis en ganglios linfáticos pélvicos)

Estadificación FIGO y sus correspondencias en el TNM (UICC)

FIGO	T	N	M
Estadio I	T1-T2	N0	M0
Estadio IA	T1	N0	M0
Estadio IB	T2	N0	M0
Estadio II	T3	N0	M0
Estadio III	T1-T3	N1-N3	M0
Estadio IIIA	T1-T3	N1	M0
Estadio IIIB	T1-T3	N2	M0
Estadi IIIC	T1-T3	N3	M0
Estadio IVA	T4	cualquier N	M0
Estadio IVA	cualquier T	N4	M0
Estadio IVB	cualquier T	cualquier N	M1

- Se debe especificar el subestadio « i » de la FIGO
- La designación "T" se refiere a un tumor primario que no ha sido tratado previamente.
- El símbolo "p" se refiere a la clasificación patológica del TNM y está basada en el estudio macroscópico y microscópico de la lesión.
- El prefijo "y" se refiere a un tumor con tratamiento quimioterápico o radioterápico previo.
- pT supone una resección del tumor primario o una biopsia adecuada para evaluar la categoría pT mas alta.
- pN supone la obtención de ganglios linfáticos adecuados para validar metástasis ganglionares.
- pM implica el estudio microscópico de las lesiones distantes.
- La clasificación clínica (cTNM) es la realizada por el clínico antes del tratamiento durante la evaluación inicial de la paciente o cuando la clasificación patológica no es posible.

- Microscópicamente, los criterios para la estadificación patológica han sido satisfechos sin la extirpación total del tumor primario.

II. ESTUDIO DE LAS PIEZAS QUIRÚRGICAS

Las piezas quirúrgicas a ser sometidas a estudio son las de resección vulvar con el tumor y la de los ganglios linfáticos de drenaje. Los datos de mayor relevancia a valorar, ya que deben ser reflejados en los informes son los recogidos en la tabla 5.

Tabla 5: parámetros morfológicos a valorar en el carcinoma de vulva.

Localización del tumor en la vulva
Tamaño del tumor
Grosor del tumor y profundidad *
Tipo histológico.
Grado de diferenciación histológica.
Estado de márgenes de resección y distancia del tumor al margen de resección más próximo.
Invasión de espacios linfovascuales.
Histología de vulva preservado: lesiones preinvasoras; liquen, etc.
Otros hallazgos: Tumor múltiple
Ganglios linfáticos (localización; número total; número de ganglios afectados, tamaño; presencia o ausencia de extensión extra capsular)

* se entiende como grosor de la lesión la distancia entre de la porción más superficial del tumor (sin tener en cuenta la capa córnea) y el nivel máximo de profundidad de infiltración, En cuanto a la profundidad recoge la distancia entre la unión dermo-epidérmica más alta dentro del tumor y el nivel máximo de profundidad de invasión.

Estudio microscópico de la pieza quirúrgica:

- Descripción microscópica de la lesión.
- Tipo histológico: variedad de carcinoma, según la clasificación OMS (Tabla 1).
- Grado de diferenciación histológica: 1: bien diferenciado; 2: moderadamente diferenciado; 3: escasamente diferenciado.
- Grosor del tumor: se obtiene midiendo la distancia (en mm) que existe entre la parte más superficial del tumor, sin tener en cuenta la capa córnea o queratínica, hasta el nivel máximo de profundidad de la lesión.
- Nivel máximo de profundidad: se obtiene en la zona de infiltración del tumor midiendo la distancia (usualmente en mm) que existe en la cresta de unión dérmico-epidérmica más alta y el nivel máximo de profundidad de la lesión. Este punto es complejo y dificultoso, ya que depende de una previa buena orientación del corte histológico y que coincida con el máximo grado de infiltración del tumor.
- Bordes del tumor: expansivos o infiltrantes.
- Presencia o ausencia de invasión de espacios linfovascuales
- Estado de los márgenes quirúrgicos.
- Histología de la mucosa vulvar preservada; indicando si existe lesión preinvasora (VIN), liquen u otras alteraciones.
- Los estudios de inmunohistoquímica deberán quedar reflejados en el informe.
- Las piezas de linfadenectomía inguinal son el resultado de una exéresis de todo el paquete inguino-femoral.

Guía de Cérvix Uterino

Jaume Ordi⁽¹⁾, Irmgard Costa Trachel⁽²⁾, Iñaki Arias-Camisón⁽³⁾

(1) Hospital Clínic, Barcelona

(2) Corporació Sanitària i Universitària Parc Taulí, Sabadell

(3) Instituto Oncológico, San Sebastián

I. PROTOCOLOS DE INCLUSIÓN PARA LESIONES PREMALIGNAS Y CÁNCER DE CÉRVIX

a) Biopsias diagnósticas y legrado endocervical

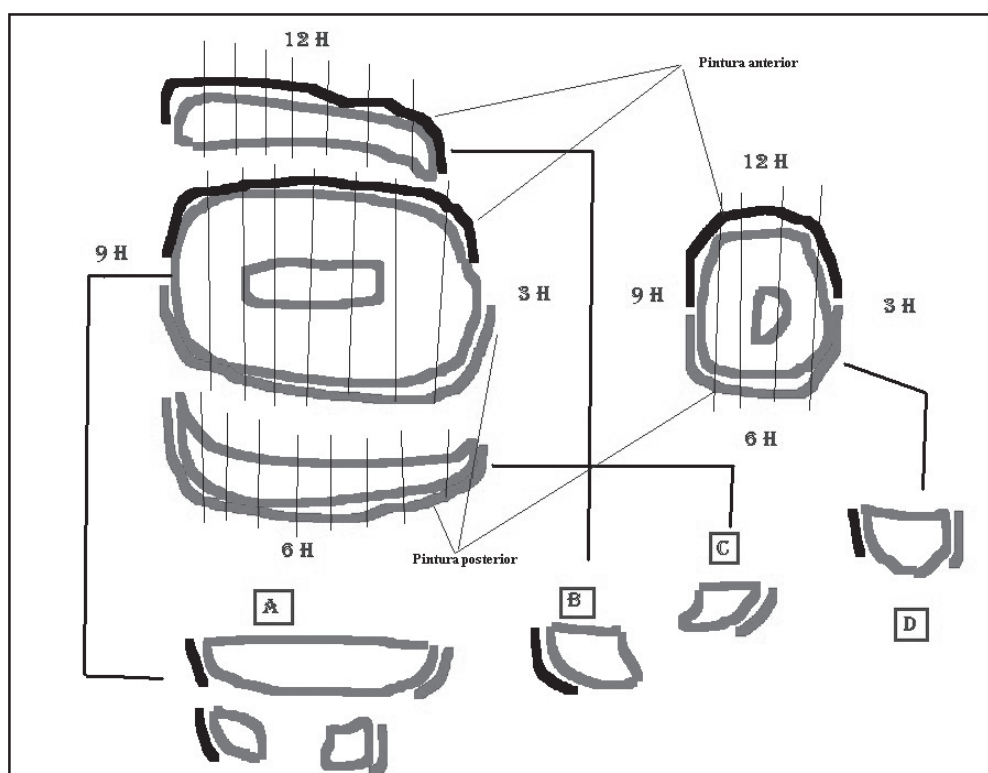
- Se incluyen en su totalidad.

b) Tratamiento de las lesiones intraepiteliales: conización con asa de diatermia o, excepcionalmente, conización fría

- Suelen recibirse orientadas sobre cartón (fijadas con aguja) o marcadas con un punto de sutura que indica las 12 h (labio anterior).
- Pintar el margen anterior con tinta azul y el posterior con tinta negra.
- Realizar cortes paralelos desde la comisura derecha (9 horas) hasta la izquierda e incluir todo el cérvix (no más de dos cortes por cápsula (labio anterior y labio posterior en la misma)
- En caso de existir ampliaciones (endocérvix, labio anterior, labio posterior), repetir la operación.

Fig. 1: Cortes de piezas de conización por lesión intraepitelial



Fig. 2: Inclusión de piezas de conización por lesión intraepitelial.


c) Tratamiento del cáncer de cérvix

1. Histerectomía total convencional o histerectomía radical

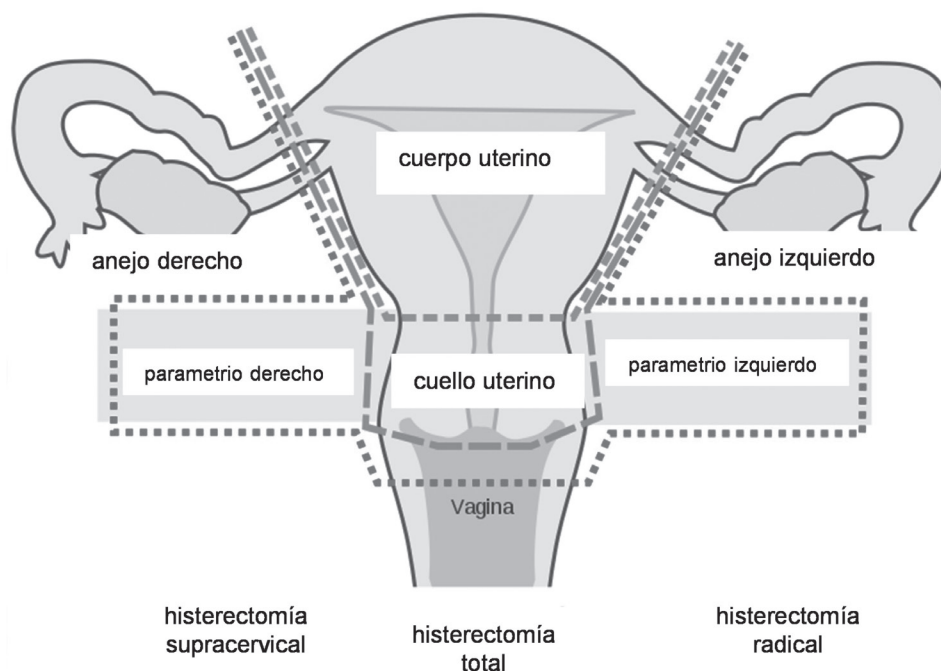
La histerectomía radical tipo III (Tipo C) ha sido, clásicamente, el procedimiento indicado para el tratamiento quirúrgico del carcinoma de cérvix FIGO IB--IIA (<4 cm). Actualmente se acepta que la histerectomía tipo B (tipo II) es igualmente efectiva pero con una disminución significativa de la morbilidad, especialmente en las complicaciones urinarias. Más recientemente, un estudio aleatorizado evidencia que en el tratamiento de las pacientes con estadio IB--IIA, la histerectomía extrafascial (tipo I) y la radical (tipo III) no ofrecen diferencias en cuanto al porcentaje de recurrencias o la supervivencia global. Además, diferentes estudios retrospectivos evidencian que la invasión paracervical (anterior, posterior o lateral) es prácticamente ausente en casos seleccionados (tumores menores de 2 cm y con ausencia de afectación ganglionar). Estos datos confirman la necesidad de adaptar la extensión de la resección a las características de la neoplasia cervical y abren nuevas vías en los próximos protocolos que incluyan una conducta más conservadora en estos tumores.

Protocolo de inclusión. Bloques

- Tumor:

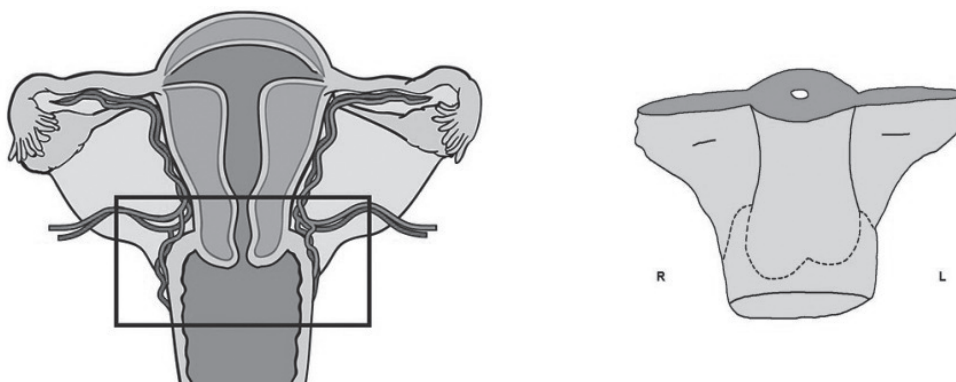
- Si se identifica macroscópicamente: 4 secciones
 - 2 de la máxima infiltración
 - 2 del límite tumor - cérvix normal
- Si no se identifica macroscópicamente el tumor (o si hi hay dudas) incluir todo el cérvix como si fuera una conización
- Si viene con rodete vaginal: incluir todo el rodete paralelo al margen.
- En caso de histerectomía radical con parametrios: 1-2 bloques de cada, dependiendo de si caben o no en una cápsula.
- Resto como histerectomía convencional (2 bloques endometrio-miometrio, 1 miometrio serosa, 1 de cada anexo, 1 de lesiones adicionales -pólipos, miomas, etc., si hubiera).
- Si se reciben ganglios, diseccionarlos e incluir una sección de cada uno (corte siguiendo el eje mayor)

Fig. 3: Tipos de histerectomía



2. Traquelectomía

Exéresis quirúrgica del cérvix por debajo de la arteria uterina. La traquelectomía radical: incluye colpectomía superior y exéresis del tejido paravaginal y parametrial por debajo del nivel de la arteria uterina. Requiere de disección del segmento distal del uréter. (Las especificaciones sobre la radicalidad hechas para la histerectomía radical son igualmente válidas para la traquelectomía).



Bloques

- Margen de resección endocervical (sección transversal).
- Margen de resección vaginal: Incluir todo el rodete vaginal en cortes transversales.
- Parametrios: 1-2 bloques de cada) dependiendo de si caben o no en una cápsula).
- Incluir todo el cérvix en secciones paralelas.
- Si se reciben ganglios disecarlos e incluir una sección de cada uno (corte siguiendo el eje mayor).

II. RECOMENDACIONES GENERALES PARA LA REDACCIÓN DE UN DIAGNÓSTICO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA PATOLOGÍA MALIGNA Y PREMALIGNA DEL CÁNCER DE CÉRVIX

a) Biopsias diagnósticas y legrado endocervical

De acuerdo con las recomendaciones de consenso del Colegio Americano de Patólogos y la Sociedad Americana de patología cervical y colposcopia, recientemente adoptados por la OMS (2014) se recomienda utilizar la terminología en dos grados para estas lesiones: 1) lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL en sus siglas en inglés) y 2) lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL en sus siglas en inglés). Esta terminología unitaria puede completarse de forma adicional con la terminología clásica de Richart en tres grados: CIN1, 2 y 3). Esta terminología unitaria debe ser utilizada nos solo para las lesiones del cérvix uterino, sino también para las lesiones relacionadas con el virus del papiloma humano de la vagina, la vulva, el ano, la región perianal y el pene.

Los laboratorios de Anatomía Patológica deberían considerar las recomendaciones para la utilización de p16 indicados por el Colegio de Patólogos Americano (CAP): a) lesiones dudosas en las que el diagnóstico diferencial incluya lesión de alto grado (atrofia, metaplasia escamosa inmadura, etc.); b) discrepancias entre patólogos; c) diagnóstico diferencial entre LSIL y HSIL (CIN2 en nomenclatura de Richart; y 4) casos con citología de HSIL y biopsia <HSIL.

a) Conización con asa de diatermia o, excepcionalmente, conización fría, para lesiones intraepiteliales

DIAGNÓSTICO:

- Tipo de intervención (1):
- Lesión histológica (2):
- Extensión de la lesión (3):
- Presencia de relleno glandular:
- Afectación de fragmentos de ampliación (4):
- Márgenes de resección (5):

En caso de carcinomas invasores

- Tamaño de la lesión en superficie (6): x mm
- Profundidad de la infiltración (7):mm
- Invasión vascular: No/Si
- Márgenes de resección (8):

(1) Tipo de intervención:

Conización con asa diatérmica, excepcionalmente conización fría.

(2) Tipo histológico:

- Lesiones escamosas: SIL-alto o SIL-bajo grado. Especificar también CIN (1,2,3). Carcinoma invasivo
- Lesiones glandulares: Adenocarcinoma in situ

(3) Extensión de la lesión: Especificar la localización (labio anterior o posterior) y el número de cuadrantes afectados (1 a 4), Afectación de los fragmentos de ampliación, en exéresis con asa diatérmica,

(4) Especificar si la lesión se extiende o no a los fragmentos de ampliación (labio anterior, labio posterior, endocérvix)

(5) Márgenes de resección: Se refiere a los márgenes de resección verdaderos de la exéresis (es decir, incluyendo las ampliaciones).

(6) Tamaño de la lesión en superficie. Solamente del componente invasor (es necesario medir en milímetros)

(7) Profundidad de la infiltración. Medir en milímetros desde la basal adyacente. Si la invasión se origina en un relleno glandular, medir desde la glándula próxima , origen de la invasión, no desde la basal superficial

(8) Márgenes de resección en relación al componente invasor y al componente intraepitelial

b) Histerectomía o traquelectomía por cáncer de cérvix

DIAGNOSTICO:

- Tipo de muestra (1)
- Diagnóstico: tipo histológico (2)
- Localización del tumor (opcional)
- Dimensiones del tumor en superficie (3)
- Grosor máximo de la invasión de la pared (4)
- Grado histológico (5)
- Extensión del tumor (especificar) (6)
- Parametrios (7)
- Márgenes de resección (vagina y parametrios)
- Invasión vascular
- Lesión premaligna acompañante (especificar si afectación glandular)
- Ganglios linfáticos
- Otros hallazgos

De forma opcional se puede incluir el pTNM en el informe.

(1) Tipo de muestra: Conización, histerectomía total simple, Histerectomía radical (con ampliación de parametrios), histerectomía total con anexectomía uni /bilateral, histerectomía radical (con ampliación de parametrios) con anexectomía uni /bilateral, traquelectomía

(2) Diagnóstico (tipo histológico) (OMS 2014).

- Carcinoma Escamoso: queratinizante (M80713), no queratinizante (M80723); papilar (M80523); basaloide (M80833); condilomatoso (Warty) (M80513); verrucoso (M80513); escamotransicional (M80203); tipo linfoepitelioma (M80823)
- Adenocarcinoma (81403): Endocervical de tipo usual (M81403); Mucinoso (M84803); de tipo gástrico (M84823); Intestinal (M81443); Celulas en Anillo de Sello (M84903); Villoglandular (M82633); Endometrioide (M83803); de células claras (M83103); Seroso (M84413); Mesonéfrico (M91103); Adenocarcinoma con componente neuroendocrino (M85743)
- Otros tumores epiteliales: Carcinoma adenoescamoso (M85603); Carcinoma de células vítreas (glassy cell) (M80153); Carcinoma adenoide basal (M80983); Carcinoma adenoide quístico (M82003); Carcinoma indiferenciado (M80203)
- Tumores neuroendocrinos: Tumores neuroendocrinos bien diferenciados: Carcinoide (M82403); Carcinoide Atípico (82493); Carcinomas neuroendocrinos de alto grado: Carcinoma neuroendocrino de célula pequeña (M80423); Carcinoma neuroendocrino de célula grande (M82413)
- Tumores mesenquimales: Leiomiocarcinoma (M88903); Rabdomiocarcinoma (M89103); Sarcoma alveolar de partes blandas (M95813); Tumor maligno de vainas nerviosas periféricas (M95403); Liposarcoma (M88503); Sarcoma endocervical indiferenciado (M88053); Sarcoma de Ewing (M93643)
- Tumores mixtos epiteliales-mesenquimales: Adenosarcoma (M89333); Carcinosarcoma (M89803)
- Tumores melanocíticos: Melanoma (M87203)
- Tumores de células germinales: Tumor del saco vitelino

(3) Tamaño del tumor: especificar en milímetros

(4) Grosor máximo de la invasión de la pared en mm desde la basal

(5) Grado histológico: La gradación de los tumores cervicales no se basa en criterios objetivos universalmente aceptados. Se recomienda, no obstante, dar una idea del grado histológico del tumor, teniendo en cuenta que siempre se tratará de una impresión subjetiva.

(6) Extensión del tumor: Vagina, Cuerpo Uterino, Trompa Derecha o izquierda, Ovario derecho o izquierdo

III. ESTATIFICACIÓN DE LA FIGO PARA CÁNCER DE CÉRVIX. CORRELACIÓN CON TNM

FIGO		TNM
	Tumor primario que no puede ser comprobado	TX
	No evidencia de tumor primario	T0
(^a)	Carcinoma in situ	Tis
I	Carcinoma confinado al cérvix (la extensión al cuerpo uterino debe ser ignorada)	T1
IA	Carcinoma invasor microscópico (invasión del estroma de menos de 5 mm de profundidad desde la base del epitelio y con extensión horizontal de 7 mm o menos)	T1a ^(b)
IA1	Carcinoma invasor de menos de 3 mm en profundidad y con extensión horizontal de 7 mm o menos	T1a1
IA2	Carcinoma invasor de más de 3 y menos de 5 mm de profundidad y con extensión horizontal de 7 mm o menos	T1a2
IB	Mayor de IA2, confinado al cérvix	T1b
IB1	Menor o igual de 4 cm	T1b1
IB2	Mayor de 4 cm	T1b2
II	Tumor que invade el más allá del útero sin afectación de pared pélvica ni de tercio inferior de vagina	T2
IIA	Sin afectación de parametrios	T2a
IIB	Con afectación de parametrios	T2b
III	Afectación de pared pélvica y/o tercio inferior de vagina	T3
IIIA	Afectación de tercio interno de vagina sin afectación de pared pélvica	T3a
IIIB	Afectación de pared pélvica y/o presencia de hidronefrosis o riñón no funcionando	T3b
IVA	Afectación de mucosa de vejiga urinaria o recto o extensión más allá de la pelvis	T4a
IVB	Metástasis a distancia.	M1

La profundidad de la invasión se mide desde la base del epitelio o de la glándula desde la que se origina. La invasión vascular no afecta el estadio

(^a) La clasificación de la FIGO no incluye ya el estadio o (Tis);

(^b) Para TNM todos los tumores macroscópicamente visibles son Ib independientemente de su tamaño

AGRUPACION DE LOS ESTADIOS

FIGO	UICC		
	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a1	N0	M0
IA2	T1a2	N0	M0
IB1	T1b1	N0	M0
IB2	T1b2	N0	M0
IIA	T2a	N0	M0
IIB	T2b	N0	M0
IIIA	T3a	N0	M0
IIIB	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3a	N1	M0
	T3b	Cualquier N	M0
IVA	T4	Cualquier N	M0
IVB	Cualquier T	Cualquier N	M0

BIBLIOGRAFÍA

1. Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, Ferenczy A, Herrington S, Kim KR, et al. Tumours of the uterine cervix. Squamous cell tumours and precursors. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, eds. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon: International Agency of Research on Cancer (IARC); 2014. p. 169-206.
2. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Arch Pathol Lab Med 2012 Oct;136(10):1266-97.

Guía de prevención de Cáncer de Cuello de Útero

Aureli Torné, Marta del Pino, Maite Cusidó, Francesc Alameda, Daniel Andia, Xavier Castellsagué, Xavier Cortés, Rosario Granados, Rosa María Guarch, Belén Lloveras, Amina Lubrano, Juan Carlos Martínez-Escoriza, Jaume Ordi, Luis M. Puig-Tintoré, Mar Ramírez, Silvia de Sanjosé, Rafael Torrejón

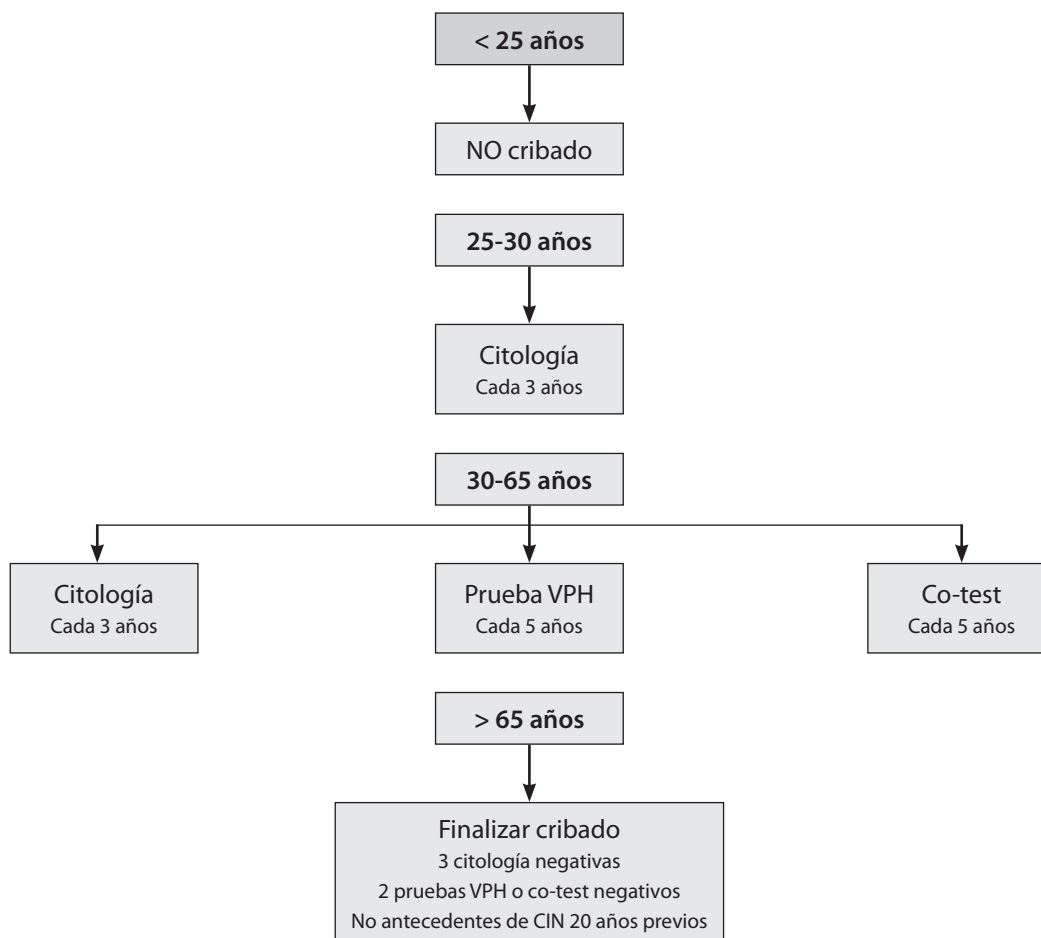
Basado en la guía de cribado del cáncer de cuello de útero en España, 2014. Rev Esp Patol. 2014;47(1):1-43

ÍNDICE:

- I. Recomendaciones de cribado
- II. Conducta ante resultados anormales de las pruebas de cribado
 - II.1. Citología negativa y prueba de VPH positiva
 - II.2. Citología no satisfactoria.
 - II.3. Atipia en células escamosas de significado incierto (ASC-US)
 - II.4. Atipia en células escamosas que no permite descartar lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H)
 - II.5. Lesión escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL)
 - II.6. Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL)
 - II.7. Citología de atipia de células glandulares (ACG)
- III. Conducta ante resultados histológicos anormales
 - III.1. Conducta ante el diagnóstico histológico de LSIL/CIN1
 - III.1.1. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 precedido de citología ASC-US, LSIL, o VPH persistente
 - III.1.2. Diagnóstico histológico LSIL-CIN1 precedido de citología HSIL, ASC-H o ACG
 - III.1.3. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 endocervical
 - III.1.4. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 en poblaciones especiales
 - III.2. Conducta ante el diagnóstico histológico HSIL/CIN 2-3
 - III.3. Conducta ante el diagnóstico citológico o histológico de adenocarcinoma in situ (AIS)
- IV. Seguimiento post-tratamiento

I. RECOMENDACIONES DE CRIBADO

Población diana y estrategia de cribado		Niveles de evidencia	Recomendación
Mujeres que han iniciado su actividad sexual y con edad comprendida entre los 25 y 65 años de edad		Moderado	Fuerte a favor
El cribado, independientemente de la prueba utilizada, debería garantizar una propuesta de base poblacional con mecanismos de evaluación de cobertura		Moderado	Fuerte a favor
Edad	Prueba de cribado		
Antes de los 25 años	Ninguna prueba de cribado	Moderado	Fuerte a favor
Entre 25 y 30 años	Citología cervical cada 3 años	Alto	Fuerte a favor
Entre 30 y 65 años	• Prueba VPH cada 5 años	Alto	Fuerte a favor
	• Co-test cada 5 años	Bajo	Débil a favor
	• Citología cervical cada 3 años	Moderado	Débil a favor
A partir de los 65 años	Finalizar el cribado No cribado previo adecuado y negativo (10 años) y no CIN o CCU (20 años)	Moderado	Fuerte a favor
Histerectomía (No CIN ni CCU previos)	Ninguna prueba de cribado	Alto	Fuerte a favor
Antecedente de CIN2+	Cribado al menos 20 años	Moderado	Fuerte a favor
Inmunodeprimidas	• Citología a partir de los 21 años	Bajo	Fuerte a favor
	• Co-test a partir de los 30 años	Bajo	Fuerte a favor
Obtención de muestras para cribado			
Citología en medio líquido			Preferente
Citología, extensión en portaobjetos			Aceptable
Pruebas moleculares, otros medios			Aceptable
Actuación ante una prueba de cribado anormal			
Prueba VPH	Citología "réflex" si medio líquido		
Citología	Prueba VPH o Colposcopia (Protocolo específico)		



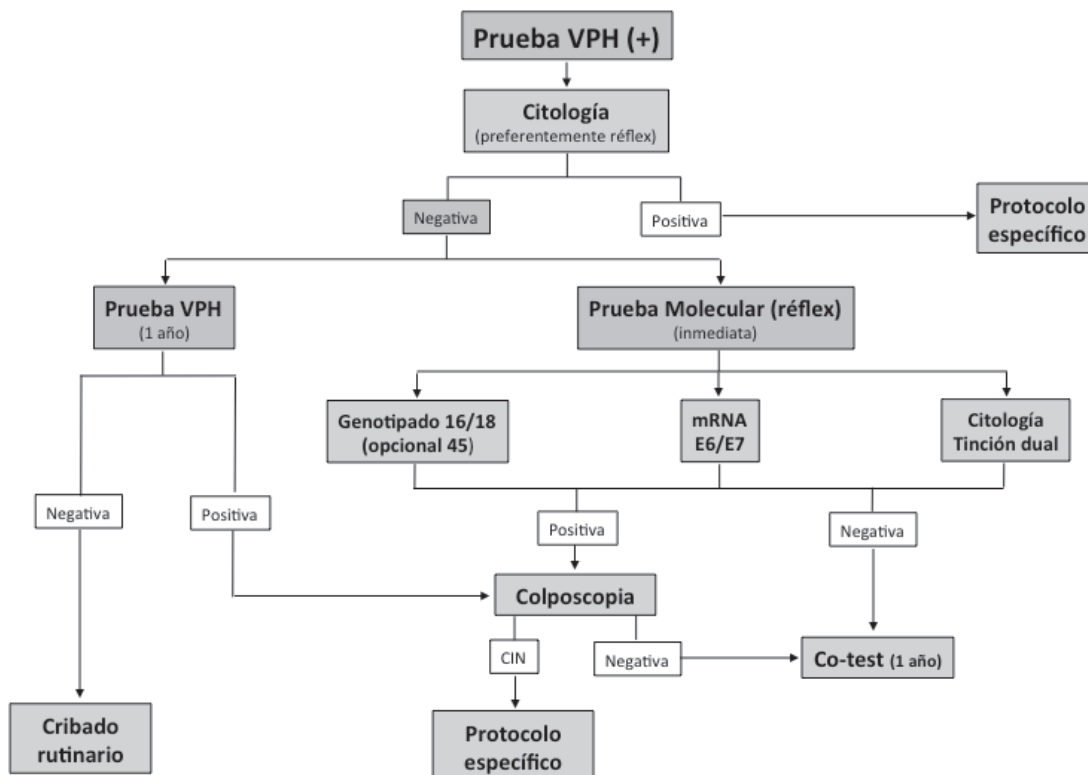
* Aunque la citología cervical exclusiva en el cribado primario continúa vigente, siempre que se cumplan los controles de calidad preceptivos, la transición a cribado con prueba VPH debería ser un objetivo alcanzable en el plazo de 3-5 años para todos los ámbitos del cribado primario de cáncer de cuello uterino. Esta recomendación se justifica en base a la ganancia en calidad y validez del cribado.

** Globalmente, prueba de VPH y citología (co-test) no añade mayor rendimiento y eficacia a la prueba de VPH-AR como método único y conlleva un mayor gasto de recursos. La elección del co-test debe tener una finalidad transitoria mientras se incorpora e implementa la tecnología para la detección del VPH.

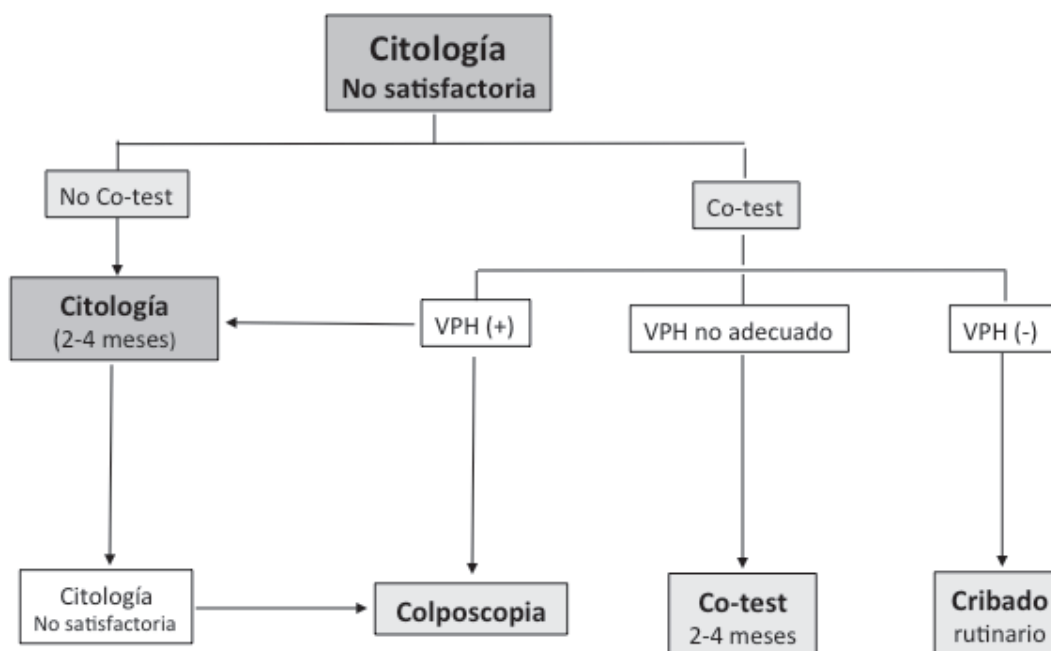
CIN: neoplasia cervical intraepitelial; VPH: virus del papiloma humano.

II. CONDUCTA ANTE RESULTADOS ANORMALES DE LAS PRUEBAS DE CRIBADO

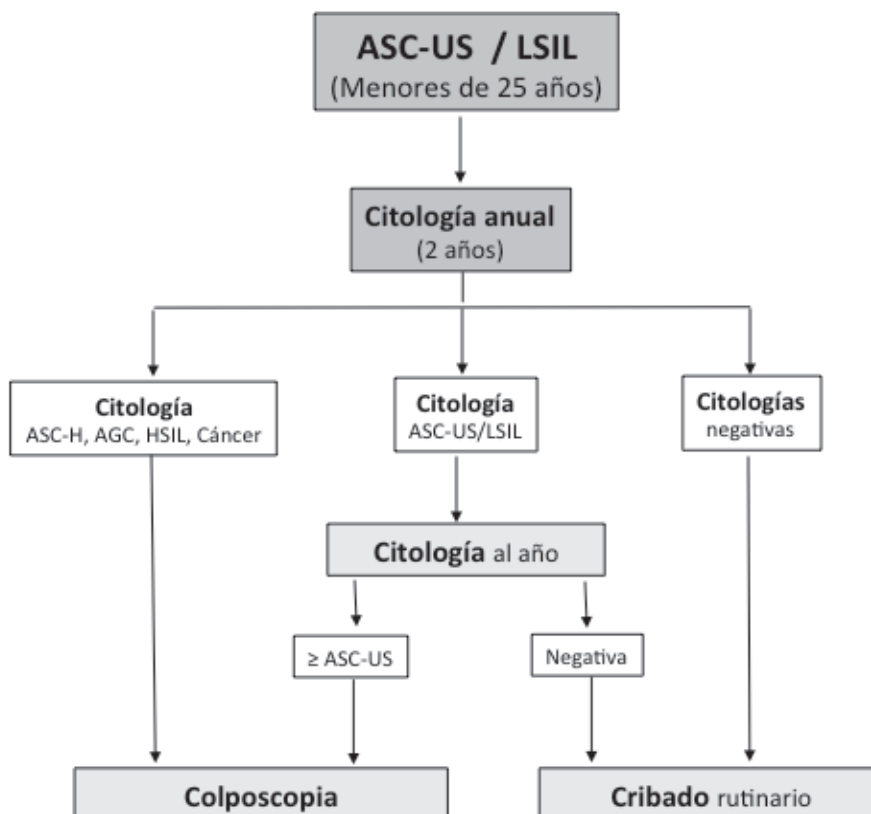
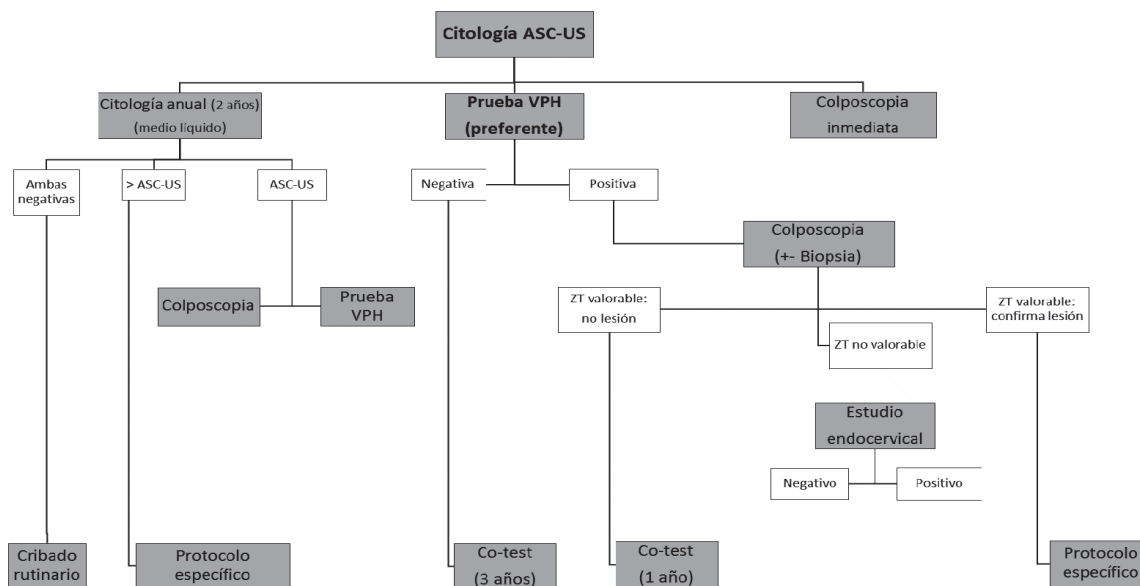
II.1. Citología negativa y prueba de VPH positiva



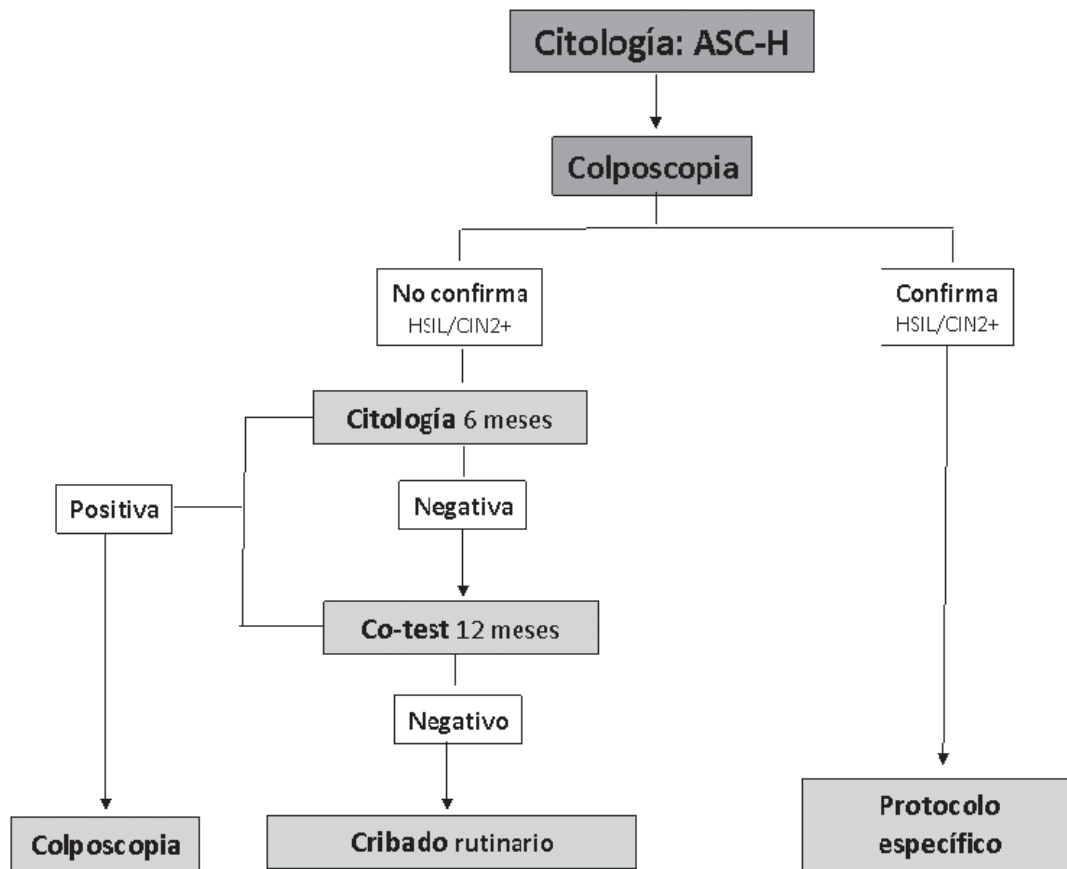
II.2. Citología no satisfactoria



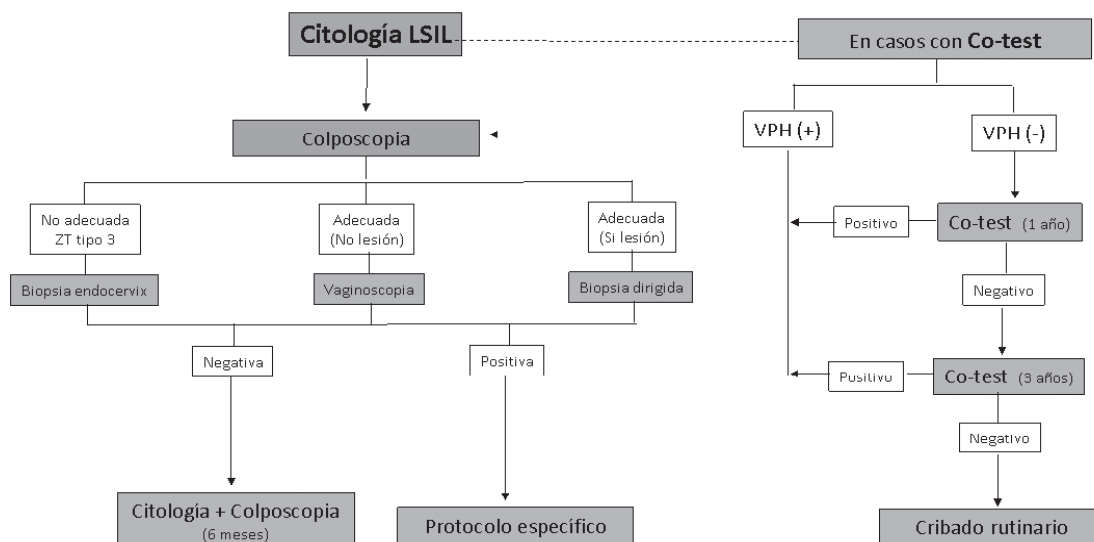
II.3. Atipia en células escamosas de significado incierto (ASC-US)

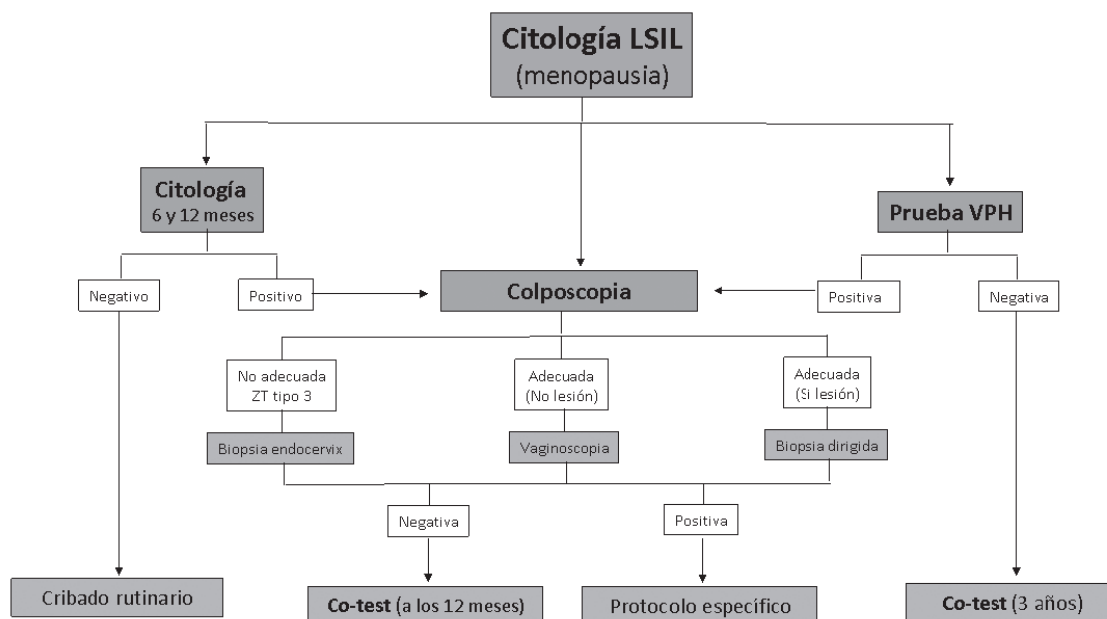


II.4. Atipia en células escamosas que no permite descartar lesión intraepitelial de alto grado (ASC-H)

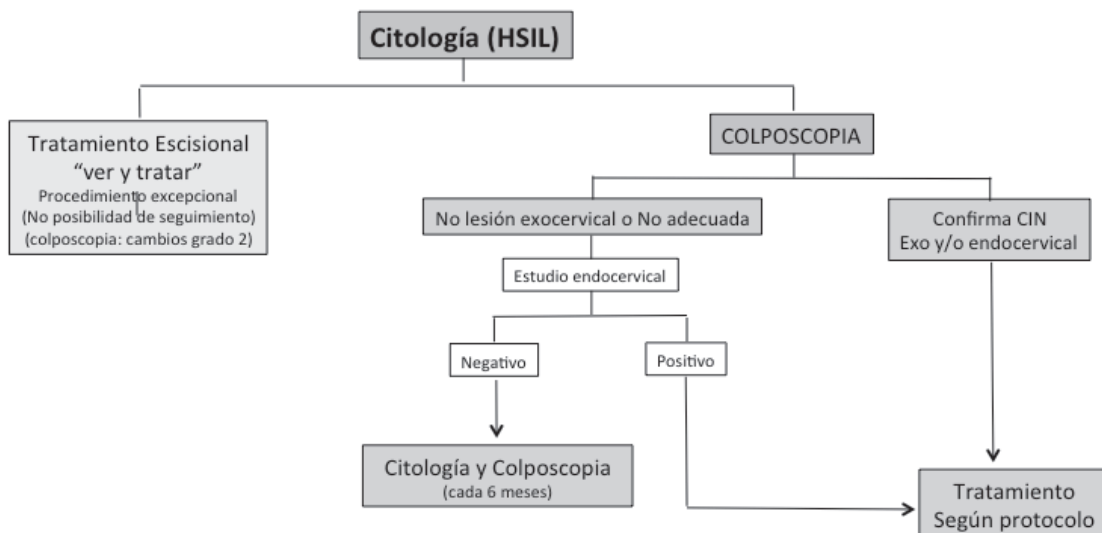


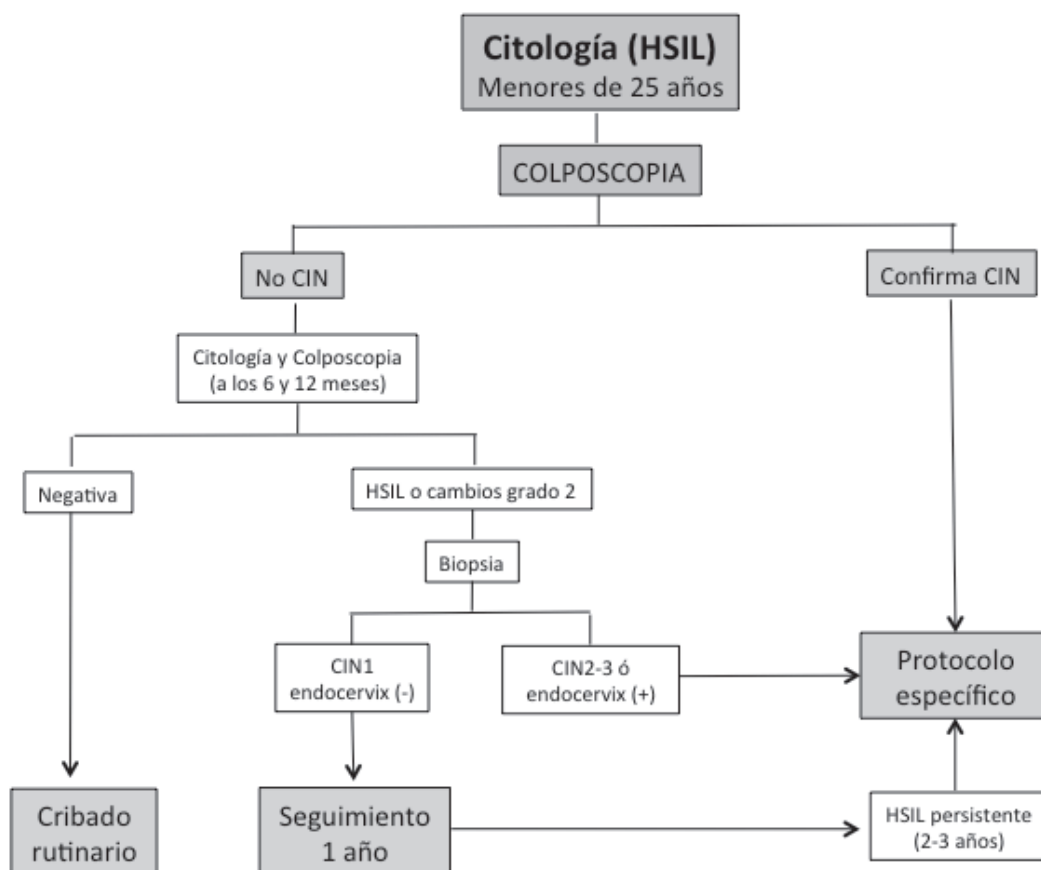
II.5. Lesion escamosa intraepitelial de bajo grado (LSIL)



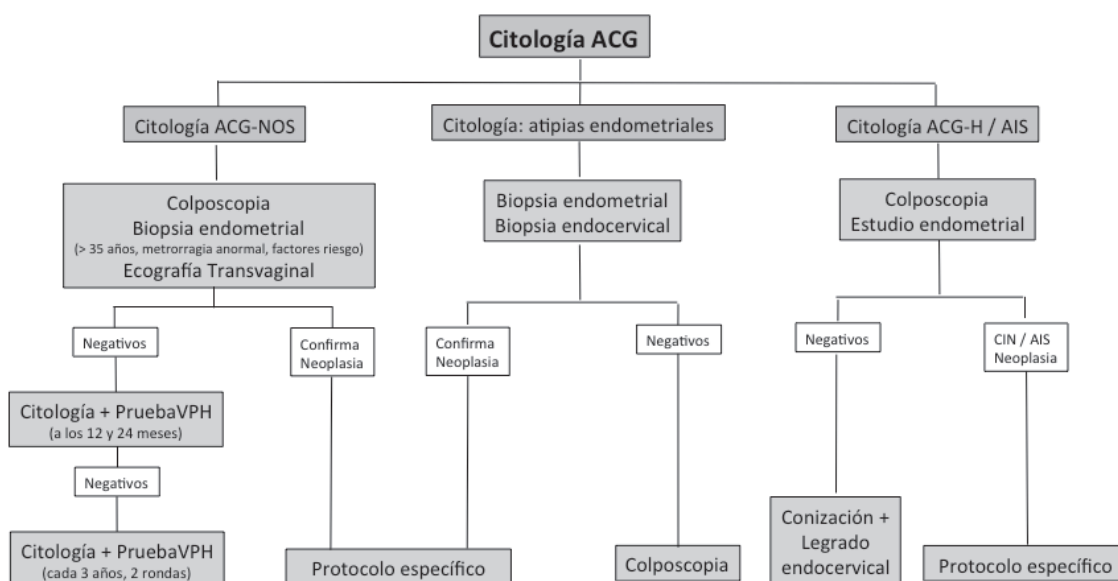


II.6. Lesión escamosa intraepitelial de alto grado (HSIL)





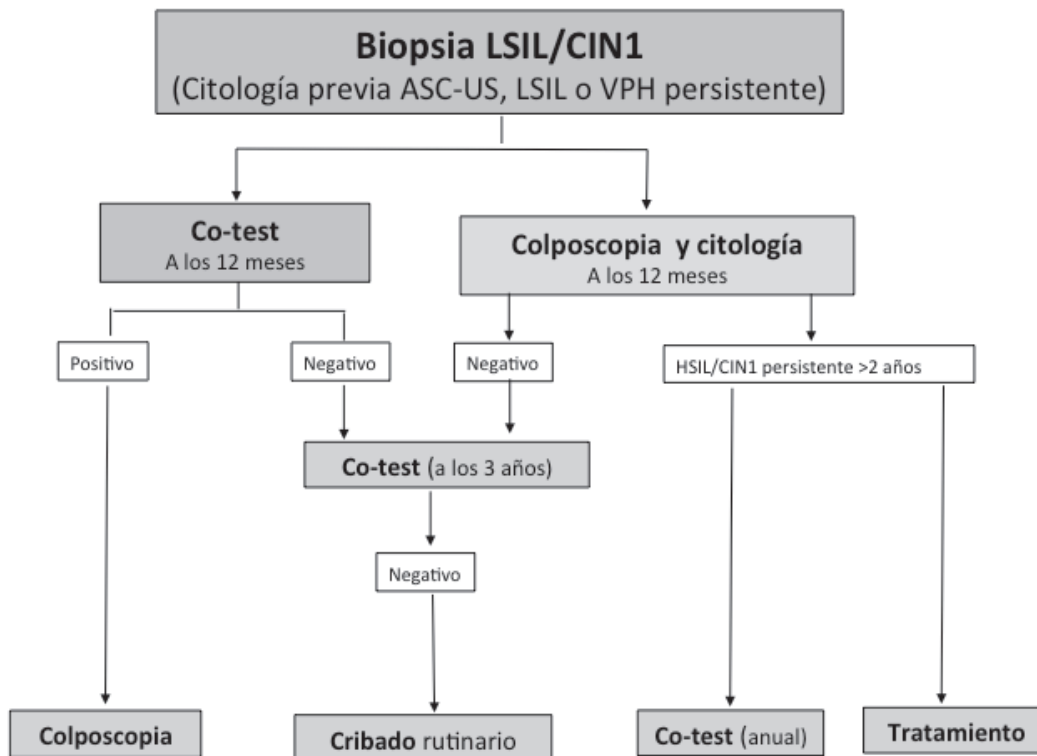
II.7. Citología de atípia de células glandulares (ACG)



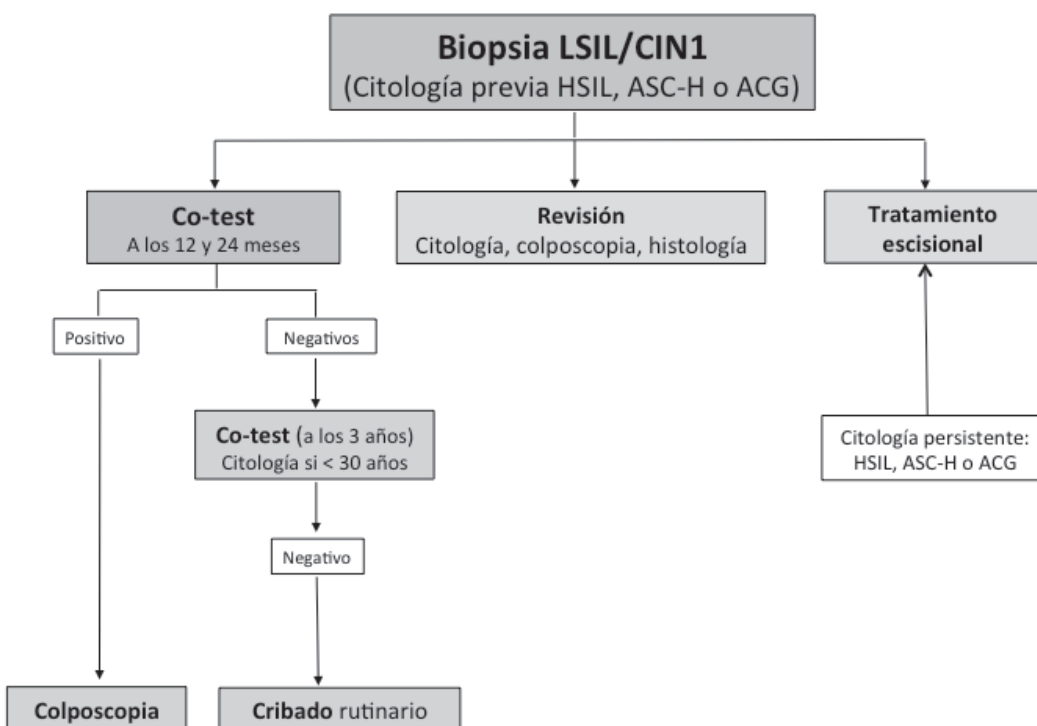
III. CONDUCTA ANTE RESULTADOS HISTOLÓGICOS ANORMALES

III.1. Conducta ante el diagnóstico histológico de LSIL/CIN1

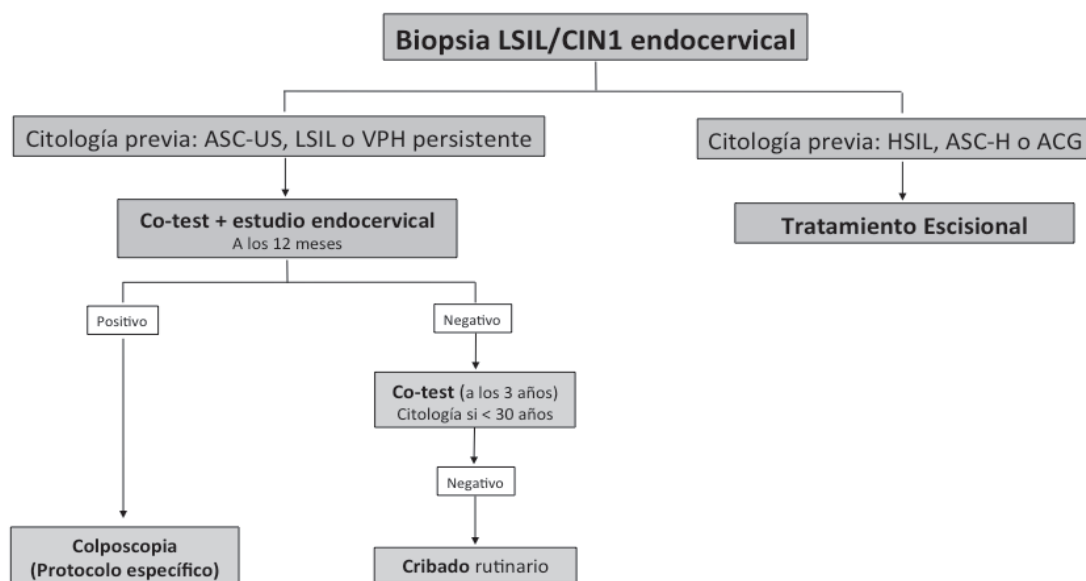
III.1.1. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 precedido de citología ASC-US, LSIL, o VPH persistente



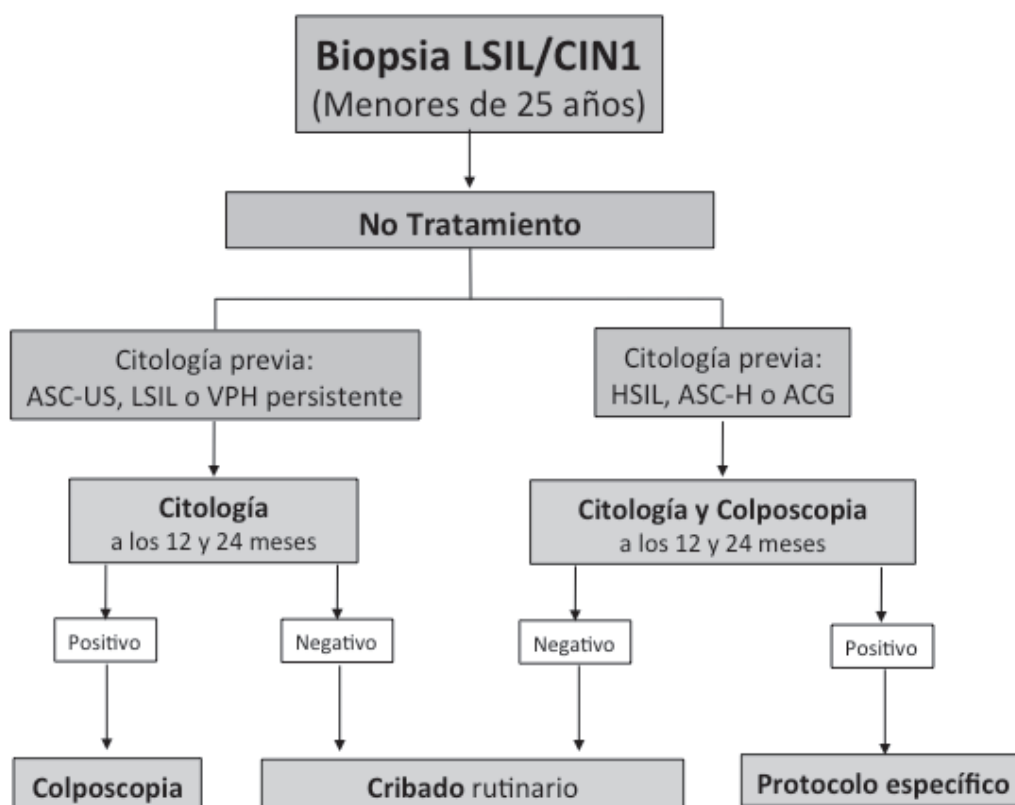
III.1.2. Diagnóstico histológico LSIL-CIN1 precedido de citología HSIL, ASC-H o ACG



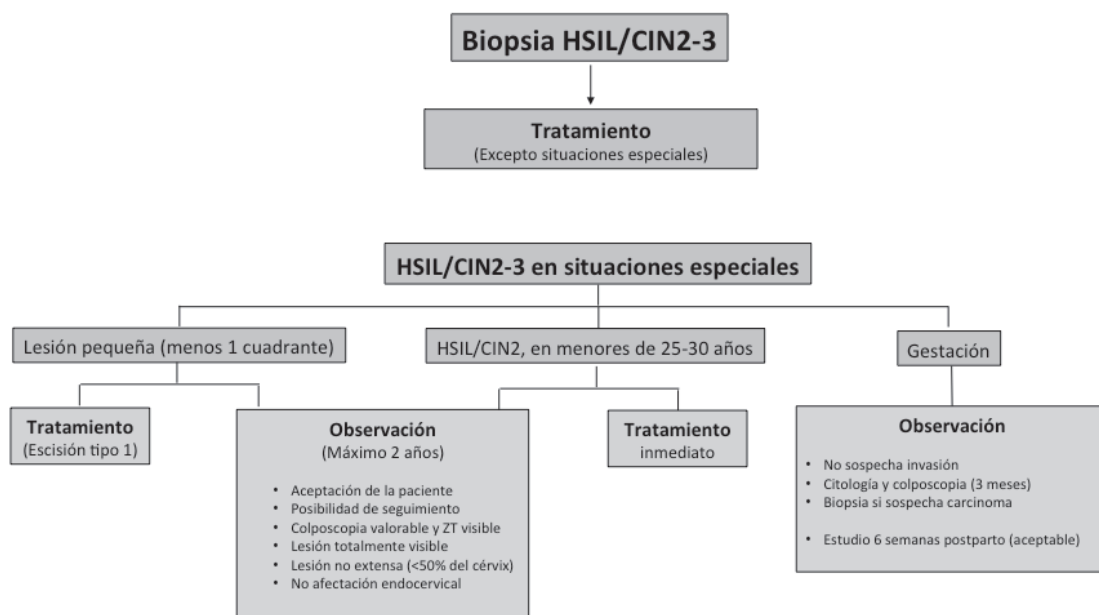
III.1.3. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 endocervical



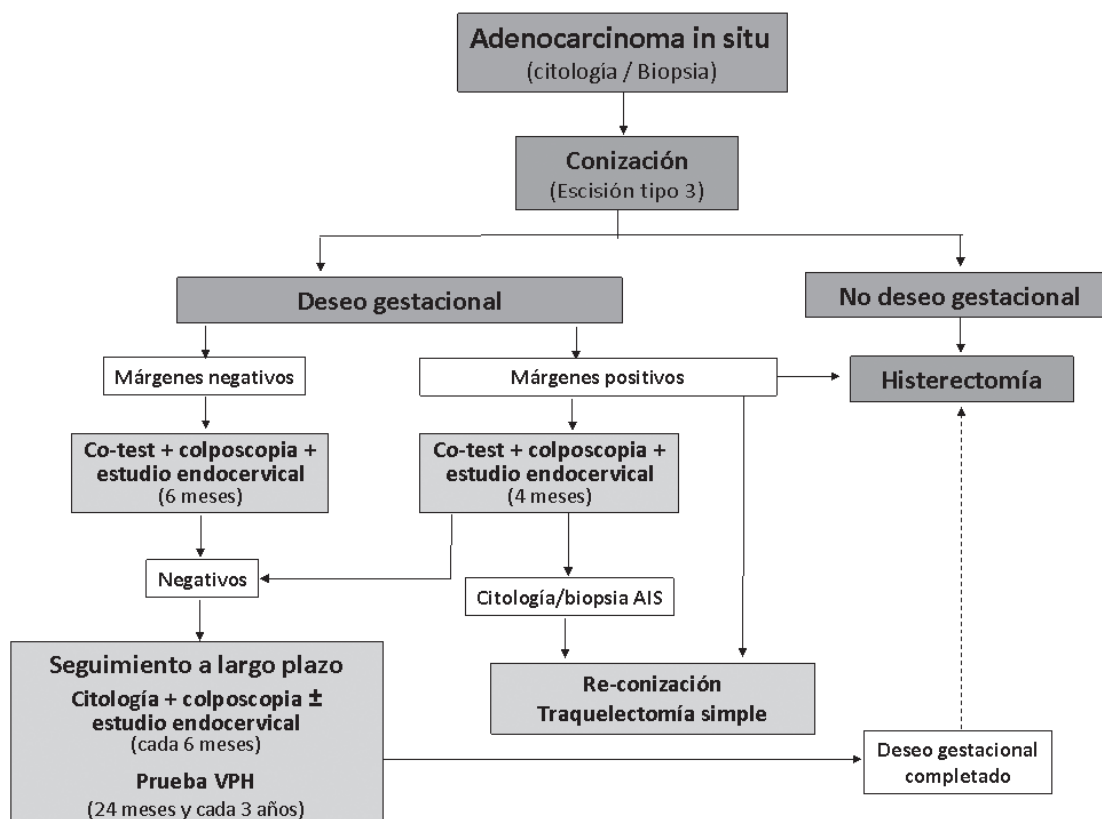
III.1.4. Diagnóstico histológico LSIL/CIN1 en poblaciones especiales



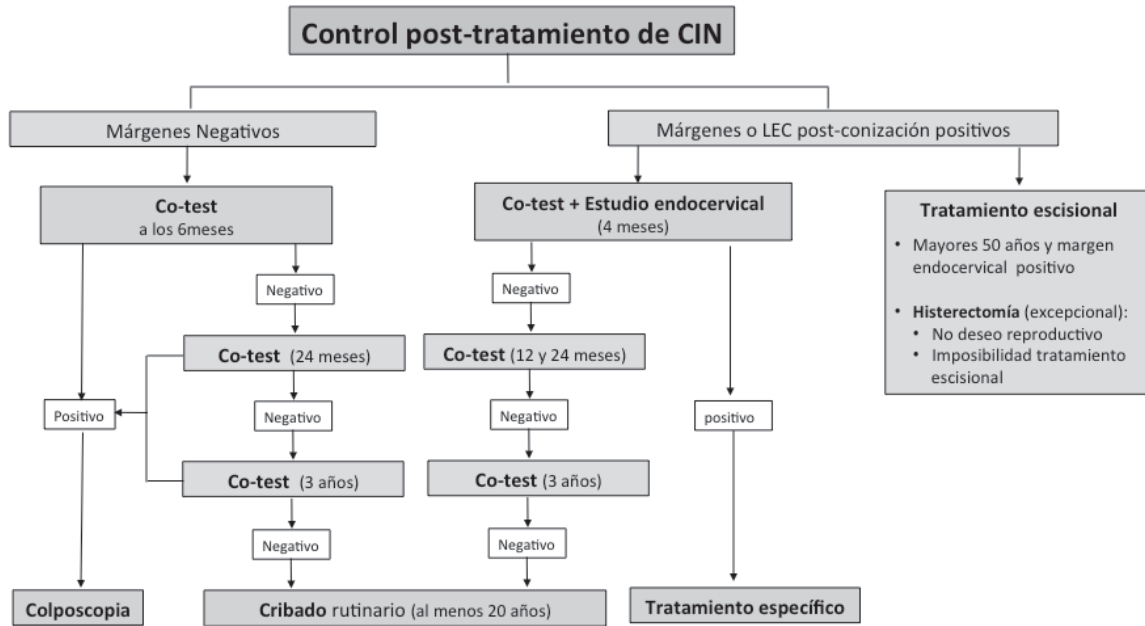
III.2. Conducta ante el diagnóstico histológico HSIL/CIN 2-3



III.3. Conducta ante el diagnóstico citológico o histológico de adenocarcinoma in situ (AIS)



IV. SEGUIMIENTO POST-TRATAMIENTO



Guía de Cáncer de Endometrio

Xavier Matias-Guiu (1), Esther Oliva (2), María Merino (3)

(1) *Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLleida, Lleida,*

(2) *Massachusetts General Hospital, Boston*

(3) *National Cancer Institute, Bethesda*

Basado en la propuesta de la International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR), *Int J Gynecol Pathol* 2013, 32:45-65, y en la clasificación OMS 2014.

I. RECOMENDACIONES GENERALES PARA LA REDACCIÓN DE UN INFORME DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DE CÁNCER DE ENDOMETRIO

El Informe Patológico ha de incluir como **elementos imprescindibles**:

Macroscópicos:

1. Tipos de muestra (Tipo de biopsia o de pieza quirúrgica)
2. Estructuras anatómicas adheridas
3. Piezas acompañantes

Microscópicos:

1. Tipo histológico (OMS, 2014)
2. Grado histológico FIGO
3. Invasión miometrial
4. Invasión vascular, linfática o perineural
5. Invasión del estroma cervical
6. Afectación vaginal
7. Afectación de la serosa uterina
8. Afectación parametrial
9. Afectación anexial
10. Afectación de epiplon
11. Afectación peritoneal
12. Metástasis ganglionares
13. Metástasis a distancia
14. Estadío FIGO provisional

El Informe Patológico puede incluir como **elementos recomendables**:

Macroscópicos:

1. Localización del tumor
2. Tamaño del tumor
3. Clave de secciones de bloques de parafina

Diagnóstico:

1. Porcentaje de Componentes en los tumores mixtos
2. Porcentaje de Componentes en los carcinosarcomas
3. Afectación del epitelio cervical
4. Distancia de los márgenes de resección cervicales
5. Distancia de la serosa uterina
6. Porcentaje de invasión miometrial
7. Presencia de lesiones en el endometrio no tumoral
8. Presencia de células tumorales en el lavado peritoneal
9. numero de ganglios linfáticos afectados en relación a los identificados
10. afectación extracapsular en ganglios linfáticos
11. Mención de las técnicas inmunohistoquímicas que se han realizado
12. Estadío pTNM provisional

II. CLASIFICACION HISTOLOGICA DE LOS TUMORES EPITELIALES DEL CUERPO UTERINO (OMS, 2014)

A. CARCINOMA DE ENDOMETRIO

1. CARCINOMA ENDOMETRIOIDE DE ENDOMETRIO (USUAL Y VARIANTES)
2. ADENOCARCINOMA MUCINOSO
3. ADENOCARCINOMA SEROSO
4. ADENOCARCINOMA DE CELULAS CLARAS
5. TUMORES NEUROENDOCRINOS
6. ADENOCARCINOMA MIXTO
7. CARCINOMA INDIFERENCIADO Y DESDIFERENCIADO

Comentarios:

Existe una corriente de opinión creciente de considerar a los Tumores Müllermanos Mixtos Malignos (Carcinosarcomas) como carcinomas que presentan una transformación morfológica hacia sarcoma. En la mayoría de los casos, estos tumores se originan de carcinomas no-endometrioides, pero pueden originarse también de carcinomas endometrioides. Existen evidencias moleculares que sugieren que estos tumores son carci-

nomas endometrioides en los que el componente sarcomatoso ha adquirido las características moleculares de la transición epitelio-mesenquima. Aunque en la clasificación de la OMS de 2014, los carcinosarcomes no aparecen entre los carcinomas de endometrio, las biopsias y piezas quirúrgicas con carcinosarcomes deberían informarse siguiendo los mismos criterios que los expuestos para los carcinomas de endometrio.

B. LESIONES PRECANCEROSAS ENDOMETRIALES

1. HIPERPLASIA NO-ATÍPICA
2. HIPERPLASIA ATÍPICA/NEOPLASIA INTRAEPITELIAL ENDOMETRIOIDE

C. GRADO FIGO (% DE TUMOR SÓLIDO):

- G1-BIEN DIFERENCIADO (<5% TUMOR SÓLIDO)
- G2-MODERADAMENTE DIFERENCIADO (6-50% TUMOR SÓLIDO)
- G3-POCO DIFERENCIADO (>50% DE TUMOR SÓLIDO)

Comentarios:

El componente escamoso no se contabiliza como componente sólido. Cuando la atipia citológica es desproporcionada a la complejidad arquitectónica, el grado se incrementa en un punto. En los carcinomas no-endometrioides (serosos, células claras) el grado se realiza por el aspecto de los núcleos y son G3.

Recomendaciones generales para la redacción de un informe de Anatomía Patológica de Sarcomas Uterinos

Xavier Matías Guiu

Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLleida, Lleida

El Informe Patológico ha de incluir:

Tipos de muestra (Tipo de biopsia o de pieza quirúrgica)

Diagnóstico:

1. Tipo histológico
2. Tamaño del tumor
3. Localización
4. Invasión miometrial en el caso de adenosarcoma
5. Presencia o Ausencia de invasión vascular, linfática o perineural
6. Afectación anexial
7. Márgenes de resección
8. Afectación de tejidos pélvicos
9. Afectación de tejidos abdominales extrapélvicos
10. Otras lesiones
11. Estadío
12. Mención de las técnicas inmunohistoquímicas que se han realizado (Receptores de hormonas esteroideas, CD10, marcadores musculares, Ki-67, ciclina D1)
13. Mención de los estudios moleculares que se hayan realizado (translocaciones específicas)

CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS TUMORES MESENQUIMALES DEL CUERPO UTERINO (OMS, 2014)

TIPO DE TUMOR	CÓDIGO
1. LEIOMIOMA • LEIOMIOMATOSIS INTRAVASCULAR • LEIOMIOMA METASTATIZANTE	8890/0 8890/1 8898/1
2. TUMOR MUSCULAR DE POTENCIAL MALIGNO INCIERTO	8897/1
3. LEIOMIOSARCOMA • EPITELIOIDE • MIXOIDE	8890/3 8891/3 8896/3
4. TUMORES DEL ESTROMA ENDOMETRIAL Y RELACIONADOS • SARCOMA DEL ESTROMA ENDOMETRIAL DE BAJO GRADO • SARCOMA DEL ESTROMA ENDOMETRIAL DE ALTO GRADO • SARCOMA UTERINO INDIFERENCIADO	8931/3 8930/3 8805/3
5. TUMORES MESENQUIMALES MISCELANEOS • RABDOMIOSARCOMA • PECOMA MALIGNO • OTROS	8900/3
6. TUMORES MIXTOS EPITELIALES Y MESENQUIMALES • ADENOSARCOMA	8933/3
7. TUMORES MESENQUIMALES MISCELANEOS	

Comentarios:

1. La clasificación se basa en la última clasificación de la OMS, publicada en 2014, limitada a los tumores mesenquimales malignos. Se han excluido los tumores mesenquimales benignos.
2. Los leiomiomas son tumores benignos. Existen, sin embargo, dos variedades que pueden asociarse a extensión tumoral más allá del útero, que son la leiomiomatosis intravascular, y el leiomioma metastatizante.
3. Los tumores musculares de potencial maligno incierto son tumores que no cumplen todos los criterios de leiomioma, y plantean un cierto temor a un comportamiento maligno. En la tabla que sigue se definen los principales criterios:

Necrosis	Atipia	Mitosis por 10 campos de gran aumento	Promedio de mitosis en casos recidivados	Porcentaje de recidivas
No	Focal/multifocal	< 10	4	13.6
No	Difusa	< 10	4.3	10.4
Si	No	< 10	2.8	26.7
No	No	>	-	0

4. Los leiomiosarcomas generalmente son fusocelulares o tener áreas epitelioides o mixoides.
5. Los leiomiosarcomas fusocelulares son tumores generalmente de alto grado histológico, con pleomorfismo, alto índice mitótico y necrosis, aunque una pequeña proporción pueden tener rasgos citológicos muy inocentes.
6. Los leiomiosarcomas epitelioides están predominantemente constituidos por células epitelioides. El índice mitótico es generalmente superior a 3 mitosis por 10 campos de gran aumento.

7. Los leiomiomas mixoides están predominantemente constituidos por áreas mixoides.
8. Los sarcomas del estroma endometrial de bajo grado están constituidos por células que simulan las células estromales del endometrio proliferativo. Generalmente muestran un índice mitótico inferior a 5 mitosis por diez campos de gran aumento. Pueden tener diferenciación muscular, fibromixoide, de tipo cordones sexuales o incluir glándulas endometriales. Suelen ser positivos para CD10. Suelen expresar receptores de estrógenos y progesterona y WT-1. Tienen translocaciones específicas (JAZF1-SUZ12, PHF1-JAZF1, EPC1-PHF1 y MEAF6-PHF1), cuya detección puede ser de utilidad en algunos casos.
9. Los sarcomas del estroma endometrial de alto grado, son tumores de alto grado, células redondas, ocasionalmente asociados con un componente fusocelular de bajo grado. Generalmente muestran un índice mitótico superior a 10 mitosis por diez campos de gran aumento. El componente de alto grado suele ser negativo para CD10, y receptores de estrógenos y progesterona, pero suele ser intensamente positivo para ciclina D1. Tienen una translocación específica (YWHAE-FAM22), cuya detección confirma el diagnóstico.
10. Los sarcomas uterinos indiferenciados son tumores de alto grado que no muestran ningún tipo específico de diferenciación.
11. Los tumores uterinos que simulan tumores ováricos de los cordones sexuales han sido excluidos porque la mayoría se comporta de forma benigna
12. Los Pecomias (Tumores de células epitelioideas perivasculares) pueden ser benignos o malignos. Se caracterizan por mostrar diferenciación muscular y melanocítica
13. Los Adenosarcomas son tumores mixtos, con un componente epitelial benigno, y un componente mesenquimal maligno de bajo grado. Cuando al menos un 25% del tumor muestra un componente sarcomatoso de alto grado, el tumor debe ser denominado Adenosarcoma con sobrecrecimiento sarcomatoso.
14. Los carcinosarcomas no se incluyen en este apartado. Actualmente se consideran carcinomas de endometrio con diferenciación sarcomatoide y han de ser estadiados como cánceres de endometrio.

ESTADIAJE FIGO PARA SARCOMAS UTERINOS (2009):

1. LEIOMIOSARCOMAS Y SARCOMAS ESTROMALES ENDOMETRIALES

Estadio I: Tumor limitado al útero

IA: Tamaño menor o igual a 5 cm

IB: Tamaño mayor de 5 cm

Estadio II: Tumor extendido más allá del útero, pero limitado a la pelvis:

IIA: Afectación anexial

IIB: Afectación de otros tejidos pélvicos

Estadio III: Tumor invade tejidos abdominales

IIIA Afectación de un sitio

IIIB Afectación de más de un sitio

IIIC Metástasis a ganglios linfáticos pélvicos y paraórticos

Estadio IV

IVA Tumor invade vejiga urinaria o recto

IVB Metástasis a distancia

2. ADENOSARCOMAS

Estadio I: Tumor limitado al útero

IA: Tumor limitado a endometrio o endocervix, sin invasión miometrial

IB: Invasión miometrial en menos o igual al 50%

IC: Invasión miometrial en más del 50%

Estadio II: Tumor extendido más allá del útero, pero limitado a la pelvis:

IIA: Afectación anexial

IIB: Afectación de tejidos pélvicos extrauterinos

Estadio III: Tumor invade tejidos abdominales

IIIA Afectación de un sitio

IIIB Afectación de más de un sitio

IIIC Metástasis a ganglios linfáticos pélvicos y paraórticos

Estadio IV

IVA Tumor invade vejiga urinaria o recto

IVB Metástasis a distancia

FIGO GUIDELINES

2013 Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum

Jaime Prat ⁽¹⁾; for the FIGO Committee on Gynecologic Oncology ⁽²⁾

(1) *Hospital Sant Pau, Barcelona*

(2) *Committee members: H. Belhadj (Switzerland), A. Bermudez (Argentina), N. Bhatla (India), J. Cain (USA), L. Denny (Chair; South Africa), K. Fujiwara (Japan), N. Hacker (Australia), E. Åvall-Lundqvist (Sweden), D. Mutch (USA), F. Odicino (Italy), S. Pecorelli (Italy), J. Prat (Spain), M. Quinn (Co-chair; Australia), M.A-F. Seoud (Lebanon), S.K. Shrivastava (India).*

Over the past quarter of a century, several scientific developments have challenged traditional concepts in ovarian cancer. First, it was recognized that ovarian cancer is not a homogeneous disease, but rather a group of diseases—each with different morphology and biological behavior. Approximately 90% of ovarian cancers are carcinomas (malignant epithelial tumors) and, based on histopathology, immunohistochemistry, and molecular genetic analysis, at least 5 main types are currently distinguished: high-grade serous carcinoma (HGSC [70%]); endometrioid carcinoma (EC [10%]); clear-cell carcinoma (CCC [10%]); mucinous carcinoma (MC [3%]); and low-grade serous carcinoma (LGSC [$<5\%$]) [1,2]. These tumor types (which account for 98% of ovarian carcinomas) can be reproducibly diagnosed by light microscopy and are inherently different diseases, as indicated by differences in epidemiologic and genetic risk factors; precursor lesions; patterns of spread; and molecular events during oncogenesis, response to chemotherapy, and prognosis [2, 3]. Much less common are malignant germ cell tumors and potentially malignant sex cord-stromal tumors. The biomarker expression profile within a given histotype is consistent across stages. Ovarian cancers differ primarily based on histologic type.

In the era of personalized cancer medicine, reproducible histopathologic diagnosis of tumor cell type is a *sine qua non* for successful treatment. Different tumor histotypes respond differently to chemotherapy. The Committee unanimously agreed that histologic type should be designated at staging.

The finding of high-grade serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC), in patients with *BRCA* mutation undergoing risk-reducing salpingo-oophorectomy (RRSO), [4] influenced the new FIGO staging. Although STIC is capable of metastasizing and, therefore, cannot be considered carcinoma *in situ*, compelling evidence for a tubal origin of *BRCA*-positive HGSC has accumulated over the past decade [5,6]. The relative proportion of HGSCs of ovarian and tubal derivation is unknown, mainly because tumor growth in advanced-stage cancers conceals the primary site. Even in cases involving *BRCA* mutation, evidence of a tubal origin of HGSCs is incomplete and a multicentric origin of these tumors cannot be excluded. Whereas asymptomatic *BRCA*+ women undergoing RRSO have been found to have STIC in 6% of cases, symptomatic rapidly progressive

BRCA+ tumors discovered at advanced stage in younger patients are less likely to be associated with STIC. This paradox questions the effectiveness of salpingectomy alone in preventing HGSC in *BRCA*+ women [7].

The above findings suggest that the fallopian tube is linked to only some HGSCs and that the remaining cases originate from the nearby peritoneum/ovarian surface epithelium. Recently, it has been hypothesized that cytokeratin7-positive embryonic/stem cells would be capable of mullerian differentiation in cortical epithelial inclusion cysts resulting from ovarian surface epithelium (mesothelium) invaginations. [8] Primary peritoneal cancer and primary fallopian tube cancer are rare malignancies but share many similarities with the most common type of ovarian cancer and the prototype tumor occurring in women with *BRCA1* or *BRCA2* germline mutations; i.e., high-grade serous carcinoma (in the past, referred to as “papillary serous carcinoma”). Clinically, these 3 cancers are managed in a similar manner [9]. The putative tubal or peritoneal origin applies exclusively to HGSCs and not to the vast majority of ECs and CCCs, which are thought to arise in the ovary from endometriosis.

The process of the proposed changes to the staging of ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer started 3 years ago under the leadership of the Chair of the FIGO Committee on Gynecologic Oncology, Professor Lynette Denny. The proposal was sent to all relevant gynecologic oncology organizations and societies worldwide. The new staging was reached by consensus of those participating in the FIGO meeting held in Rome, Italy, on October 7, 2012 and approved 2 weeks later [10].

The following is the consensus agreement that resulted from these efforts and represents new criteria for staging of these gynecologic cancers.

2013 Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum

I Tumor confined to ovaries or fallopian tube(s)

T1-NO-M0

IA Tumor limited to one ovary (capsule intact) or fallopian tube, no tumor on ovarian or fallopian tube surface. No malignant cells in the ascites or peritoneal washings

T1a-NO-M0

IB Tumor limited to both ovaries (capsules intact) or fallopian tubes. No tumor on ovarian or fallopian tube surface. No malignant cells in the ascites or peritoneal washings

T1b-NO-M0

IC Tumor limited to one or both ovaries or fallopian tubes, with any of the following

T1c1-NO-M0

T1c2-NO-M0

T1c3-NO-M0

IC1 Surgical spill

IC2 Capsule ruptured before surgery or tumor on ovarian or fallopian tube surface

IC3 Malignant cells in the ascites or peritoneal washings

II Tumor involves one or both ovaries or fallopian tubes with pelvic extension (below pelvic brim) or primary peritoneal cancer

T2-NO-M0

IIA Extension and/or implants on the uterus and/or fallopian tubes and/or ovaries

T2a-NO-M0

IIB Extension to other pelvic intraperitoneal tissues

T2b-NO-M0

III Tumor involves one or both ovaries, fallopian tubes, or primary peritoneal cancer, with cytologically or histologically confirmed spread to the peritoneum outside the pelvis and/or metastasis to the retroperitoneal lymph nodes

T1/T2-N1-M0

IIIA1 Positive retroperitoneal lymph nodes only (cytologically or histologically proven)

IIIA1 (i) Metastasis \leq 10 mm in greatest dimension

IIIA1 (ii) Metastasis $>$ 10 mm in greatest dimension

IIIA 2 Microscopic extrapelvic (above the pelvic brim) peritoneal involvement with or without positive retroperitoneal lymph nodes

T3a2-N0/N1-M0

IIIB Macroscopic peritoneal metastasis beyond the pelvis 2 cm or less in greatest dimension, with or without metastasis to the retroperitoneal lymph nodes

T3b-N0/N1-M0

IIIC Macroscopic peritoneal metastasis beyond the pelvis more than 2 cm in greatest dimension, with or without metastasis to the retroperitoneal lymph nodes (Note 1)

T3c-N0/N1-M0

[Note 1: includes extension of tumor to capsule of liver and spleen without parenchymal involvement of either organ]

IV Distant metastasis excluding peritoneal metastases

Stage IVA: Pleural effusion with positive cytology

Stage IVB: Parenchymal metastases and metastases to extra-abdominal organs (including inguinal lymph nodes and lymph nodes outside of abdominal cavity)

Any T, Any N, M1

Notes

The primary site i.e. ovary, fallopian tube or peritoneum, should be designated where possible. In some cases, it may not be possible to clearly delineate the primary site and these should be listed as 'undesigned'

MAIN CHANGES

The **primary site** (i.e. ovary, fallopian tube, or peritoneum) should be designated where possible. In some cases, it might not be possible to delineate the primary site clearly; such cases should be listed as "undesigned." The histologic type should be recorded.

The following is the consensus agreement that resulted from these efforts and represents new criteria for staging of these gynecologic cancers.

Stage I ovarian or fallopian tube cancer is confined to the ovaries or the fallopian tubes and peritoneal fluid/washings. Tumor rupture, surface involvement by tumor cells or presence of malignant cells in the ascites or peritoneal washings warrants a stage of IC. It is not possible to have stage I peritoneal cancer.

Stage II ovarian cancer comprises a small and heterogeneous group making up less than 10% of ovarian cancers. It is defined as extension or metastasis to extraovarian/extratubal pelvic organs and may include curable tumors that have directly extended to adjacent organs but have not yet metastasized, as well as tumors that have seeded the pelvic peritoneum by metastasis and, therefore, have a poor prognosis. The Committee felt that subdividing this small category further into IIB1 and IIB2 (i.e. microscopic and macroscopic pelvic peritoneal metastases) was not based on evidence/biology. All stage II disease is treated with adjuvant chemotherapy, so subclassification is not essential. Also, the old substage IIC (i.e. IIA or IIB but with tumor on surface, capsule ruptured, or ascites or positive peritoneal washing) was considered redundant and eliminated.

Most ovarian cancers are HGSCs that usually present in **stage III**, with the vast majority (84%) stage IIIC [11]. These tumors characteristically spread along peritoneal surfaces involving both pelvic and abdominal peritoneum. Less than 10% of ovarian carcinomas extend beyond the pelvis with exclusively retroperito-

neal lymph node involvement. Evidence in the literature indicates that these cases have a better prognosis than that of tumors with abdominal peritoneal involvement [12-18]. The new staging includes a revision of stage III patients and assignment to stage IIIA1 based on spread to the retroperitoneal lymph nodes without intraperitoneal dissemination. Stage IIIA1 is further subdivided into IIIA1(i) (metastasis ≤ 10 mm in greatest dimension) and IIIA1(ii) (metastasis > 10 mm in greatest dimension), even if there are no retrospective data supporting quantification of the size of metastasis in IIIA1. Involvement of retroperitoneal lymph nodes must be proven cytologically or histologically.

Stage IV is defined as distant metastasis and includes patients with parenchymal liver/splenic metastases and extra-abdominal metastases; 12%–21% of patients present with stage IV disease [11]. Extension of tumor from omentum to spleen or liver (stage IIIC) should be differentiated from isolated parenchymal metastases (stage IVB).

REFERENCES

1. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS, Young RH, eds. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. (4th edition). IARC: Lyon 2014. (Chapter 1: Tumours of the ovary).
2. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinico-pathological features. *Virchows Arch* 2012;460:237–249.
3. Gilks CB, Prat J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances. *Hum Pathol* 2009;40:1213–1223.
4. Piek JM, van Diest PJ, Zweemer RP, Jansen JW, Poort-Keesom RJ, Menko FH, et al. Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer. *J Pathol* 2001;195:451–456.
5. Callahan MJ, Crum CP, Medeiros F, Kindelberger DW, Elvin JA, Garber JE, et al. Primary fallopian tube malignancies in BRCA-positive women undergoing surgery for ovarian cancer risk reduction. *J Clin Oncol* 2007;25:3985–3990.
6. Kindelberger DW, Lee Y, Miron A, Hirsch MS, Feltmate C, Medeiros F, et al. Intraepithelial carcinoma of the fimbria and pelvic serous carcinoma: Evidence for a causal relationship. *Am J Surg Pathol* 2007;31:161–169.
7. Meserve EE, Howitt BE, Conner JR, Schulte S, Garber J, Crum CP. Does BRCA+ pelvic serous cancer have a dual pathogenesis? The paradox of tubal intraepithelial carcinoma (TIC), early and advanced disease. *Mod Pathol* 2014; 27:296A (Abstract 1225).
8. Crum CP, Herfs M, Ning G, Bijron JG, Howitt BE, Jimenez CA, Hanamornroongruang S, McKeon FD, Xian W. Through the glass darkly: intraepithelial neoplasia, top-down differentiation, and the road to ovarian cancer. *J Pathol*. 2013;231:402-412.
9. Cannistra SA, Gershenson DM, Recht A. Ovarian Cancer, Fallopian Tube Carcinoma, and Peritoneal Carcinoma. In: De Vita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. *De Vita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Ninth Edition. Philadelphia: Lippincott, Williams, Wilkins; 2011:1368–1391.
10. Prat J. FIGO Committee on Gynecologic Oncology. Staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynecol Obstet* 2014;124:1-5.

11. Heintz AP, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Benedet JL, Creasman WT, et al. Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynecol Obstet* 2006;95 Suppl 1:S161–192.
12. Onda T, Yoshikawa H, Yasugi T, Mishima M, Nakagawa S, Yamada M, et al. Patients with ovarian carcinoma upstaged to stage III after systematic lymphadenectomy have similar survival to Stage I/II patients and superior survival to other Stage III patients. *Cancer* 1998;83:1555–1560.
13. Kanazawa K, Suzuki T, Tokashiki M. The validity and significance of substage IIIC by node involvement in epithelial ovarian cancer: impact of nodal metastasis on patient survival. *Gynecol Oncol* 1999;73:237–241.
14. Panici PB, Maggioni A, Hacker N, Landoni F, Ackermann S, Campagnutta E, et al. Systematic aortic and pelvic lymphadenectomy versus resection of bulky nodes only in optimally debulked advanced ovarian cancer: a randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:560–566.
15. Cliby WA, Aletti GD, Wilson TO, Podratz KC. Is it justified to classify patients to Stage IIIC epithelial ovarian cancer based on nodal involvement only? *Gynecol Oncol* 2006;103:797–801.
16. Ferrandina G, Scambia G, Legge F, Petrillo M, Salutari V. Ovarian cancer patients with “node-positive-only” Stage IIIC disease have a more favorable outcome than Stage IIIA/B. *Gynecol Oncol* 2007;107:154–156.
17. Baek SJ, Park JY, Kim DY, Kim JH, Kim YM, Kim YT, et al. Stage IIIC epithelial ovarian cancer classified solely by lymph node metastasis has a more favorable prognosis than other types of stage IIIC epithelial ovarian cancer. *J Gynecol Oncol* 2008;19:223–228.
18. Bakkar R, Gershenson D, Fox P, Vu K, Zenali M, Silva E. Stage IIIC ovarian/peritoneal serous carcinoma: a heterogeneous group of patients with different prognoses. *Int J Gynecol Pathol* 2014; 33:302-308.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA MAMARIA DE LA SEAP

Introducción

Alicia Córdoba, coordinadora del club

Correspondencia: alicia.cordoba.iturriagagoitia@cfnavarra.es

Para presentar e introducir estas páginas, he recurrido a la definición de “guía” de la Real Academia Española, en la que se define como: *“Tratado en que se dan preceptos para encaminar o dirigir en cosas, ya espirituales o abstractas, ya puramente mecánicas. Guía de viajes.”* Y este símil de guía de viaje nos puede ser muy útil para ilustrar cuál ha sido la intención de los autores de esta guía: dar unos consejos para encaminar los pasos en un viaje a través de la patología mamaria. En las guías de viajes nadie se siente obligado a visitar todos los museos, ni a comer en todos los restaurantes, ni a hacer todas las excursiones. Nosotros os presentamos una recopilación de las guías más solventes: College of American Pathologists, The Royal College of Pathologists, European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis (European working group for breast screening pathology), The Royal College of Pathologists of Australasia, American Joint Committee on Cancer (AJCC) y hemos añadido nuestra experiencia, para ofrecer un resumen del proceso del diagnóstico y de la elaboración del informe histopatológico. Como en la guía de viajes, se trata de aconsejar cuáles son las opciones para que sea el patólogo el que decida.

En este sentido queremos resaltar que el documento, que por excelencia refleja la estandarización de la información histopatológica, la AJCC, en su sistema TNM en la séptima edición, en el capítulo del cáncer de mama, deja la decisión final al juicio del patólogo, en varias ocasiones. Es decir que resulta imposible estandarizar todas las situaciones y todos sabemos que hay casos que no encajan en los estándares. Por ello, sin renunciar a la estandarización hay que recuperar la riqueza que supone la elaboración diagnóstica. Y recordar que nuestro trabajo supone el gran reto de interpretar e integrar todos los datos para elaborar un informe que sea fiel a la realidad que hemos visto y estudiado; y que sea comprensible y útil para todos aquellos que deberán utilizarlo comenzando por nosotros mismos.

GUÍA PRÁCTICA DE PATOLOGÍA MAMARIA PARA PATÓLOGOS

ÍNDICE

- **CORRELACIÓN RADIOLÓGICA/ HISTOLÓGICA.**
- **MUESTRAS DIAGNÓSTICAS: CITOLOGÍA Y BIOPSIA.**
- **ESTUDIO DE MUESTRAS QUIRÚRGICAS**
- **ESTUDIO DEL GANGLIO CENTINELA EN CÁNCER DE MAMA. IMPLICACIONES PRONÓSTICAS Y TERAPÉUTICAS**
- **ESTUDIOS Y RECOMENDACIONES DE BIOMARCADORES EN CÁNCER DE MAMA**

Correlación radiológica / histológica.

Maite Mellado y María José Pons.

Servicio de Radiodiagnóstico. Complejo Hospitalario de Navarra.

I. INTRODUCCIÓN

Una adecuada correlación radio-patológica es indispensable para el correcto manejo del cáncer de mama y de las lesiones mamarias benignas.

En el año 2000, el Eusoma (European Society of Breast Cancer Specialists), publicó los requerimientos que deben cumplir las unidades de mama (1,2). Deben contar, con Radiólogos especialistas en cribado y en diagnóstico e intervencionismo mamario, que además se encarguen del seguimiento de las pacientes con cáncer de mama, y con Patólogos con especial interés en patología mamaria.

Hemos asistido a un incremento importante del diagnóstico de lesiones mamarias no palpables, como consecuencia de la amplia difusión de los programas de cribado. Ello ha llevado a un aumento del intervencionismo mamario en las unidades de radiología de mama. La correlación de los hallazgos radiológicos con la descripción patológica es crucial para el manejo apropiado de las pacientes.

El Colegio Americano de Radiología (ACR), con el fin de estandarizar los hallazgos radiológicos en las distintas técnicas de imagen (mamografía, ecografía y resonancia magnética), estableció un sistema de descripción y categorización de los hallazgos en imagen de la mama.

El sistema BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System) clasifica los hallazgos radiológicos en diferentes categorías. A cada una de las categorías se le asigna una actitud a seguir (de seguimiento radiológico o de realización de intervencionismo mamario)(3,4). Los criterios para realizar una punción o una biopsia dirigida se basan en la probabilidad de que la lesión descrita corresponda a un cáncer de mama. Estas categorías sin embargo no son compartimentos estancos y como en cualquier otra área del diagnóstico por imagen existe cierta variación inter-intra observador a la hora de asignar una lesión a una determinada categoría (5,6), condicionada en parte por la experiencia profesional. Además, la indicación de realizar intervencionismo mamario está basada, no sólo en la imagen radiológica, sino también en diferentes factores relacionados con la paciente: edad, antecedentes personales, antecedentes familiares de cáncer de mama, y en si la lesión es o no palpable, etc.

El cribado del cáncer de mama está dirigido a mujeres **asintomáticas**, con el objetivo de disminuir la mortalidad por cáncer de mama. Debemos de evitar, en la medida que sea posible, el intervencionismo mamario de lesiones benignas. La ansiedad que genera la realización de pruebas invasivas en mujeres asintomáticas es uno de los efectos negativos más importantes de los programas de diagnóstico precoz (7). Existen unos estándares radiológicos que deben cumplir los programas de cribado y se recogen en la 4ª edición de la Guía Europea de control de calidad en cribado y diagnóstico del cáncer de mama (European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis).

En cuanto a la mama **sintomática**, el clínico tiene un papel indispensable en el manejo y seguimiento de las pacientes. El triple diagnóstico continúa siendo el "gold standard" a la hora de descartar la naturaleza

maligna de la lesión (exploración física, hallazgos radiológicos y punción diagnóstica). En estos casos también deberemos realizar una adecuada correlación radio patológica.

En aquellas lesiones que finalmente necesiten cirugía deberemos relacionar los hallazgos radiológicos con los patológicos en la pieza quirúrgica, confirmando la extirpación de la lesión con márgenes adecuados.

II. CLASIFICACIÓN DIAGNÓSTICA

- **Radiología (mamografía, ecografía y/o RM): Clasificación BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System)**

BIRADS 0: Se necesitan estudios adicionales y/o comparación con mamografías anteriores

BIRADS 1: Negativa

BIRADS 2: Hallazgos benignos

BIRADS 3: Hallazgos probablemente benignos

BIRADS 4: Sospechosa de malignidad

BIRADS 5: Alta sospecha de malignidad

BIRADS 6: Malignidad confirmada mediante punción biopsia

En el informe radiológico debe constar la composición del parénquima mamario (grasa, áreas de tejido glandular, heterogéneamente densa o muy densa) y los hallazgos radiológicos: el tipo de lesión (nódulo-masa, distorsión arquitectural, asimetría, calcificaciones, adenopatía, hallazgos asociados), el tamaño y la localización (mama derecha o izquierda, cuadrante o localización horaria, profundidad y distancia al pezón) y si existen lesiones adicionales. Finalmente se asignará una categoría diagnóstica BIRADS y recomendación de manejo.

- **Punción Aspiración con Aguja Fina (PAAF)**

C1: Inadecuado para el diagnóstico

C2: Células epiteliales benignas

C3: Atipia probablemente benigna

C4: Sospechoso de malignidad

C5: Maligna

El resultado de citologías insuficientes debería ser < 25% y es deseable que no supere el 15% y si la lesión es un carcinoma es deseable que este porcentaje baje del 5%

- **Biopsia con aguja gruesa (BAG) y biopsia asistida por vacío(BAV)**

B1: Inadecuado para el diagnóstico/Tejido mamario normal

B2: Benigno

B3: Benigno pero con potencial maligno incierto

B4: Sospechoso de malignidad

B5: Maligno

III. SISTEMAS DE PUNCIÓN Y CONTROL RADIOLÓGICO DEL INTERVENCIONISMO MAMARIO

En la actualidad, los radiólogos disponemos de diferentes sistemas de punción como son: la PAAF, la BAG y la BAV. Dependiendo del tipo de aguja empleada así será la muestra que se remita al servicio de Anatomía Patológica.

- Con la PAAF obtendremos muestras para estudio citológico y se suelen emplear agujas de 24 a 20G.
- Para la BAG disponemos de agujas con calibre de 18 a 14G, siendo el calibre de 14G el empleado con más frecuencia en patología mamaria.
- Para la BAV se suelen emplear agujas de calibre más grueso, entre 11 y 8G. Las agujas de biopsia permiten la obtención de muestras para estudio histológico y realización de técnicas de inmunohistoquímica con resultados fiables.

La principal ventaja de la PAAF es ser una técnica económica y con escasas complicaciones. Sin embargo la tasa de muestras insuficientes o poco representativas, la posibilidad de falsos negativos y positivos, y la mayor dificultad para estudio inmunohistoquímico, la hacen una técnica menos fiable en comparación con la biopsia con aguja gruesa. Aunque hace años su uso era más generalizado, hoy en día sus indicaciones están más limitadas y sólo suele emplearse en evacuación de quistes palpables (no es necesario citología), punción de lesiones hipoeogénicas en las que no queda clara su naturaleza quística (posibilidad de quiste con contenido), citología de áreas palpables inespecíficas (baja sospecha), citología de múltiples nódulos de aspecto probablemente benigno (posibles fibroadenomas), en mujeres jóvenes con nódulos de baja sospecha, o en algunos centros para la punción de adenopatías axilares en pacientes con cáncer de mama (estadificación axilar).

En la biopsia con aguja gruesa se utilizan agujas de corte con sistema trucut que permiten la obtención de uno o varios cilindros de tejido mamario (generalmente se suelen obtener entre 2 y 5 muestras) con los que se puede realizar un estudio histológico y técnicas inmunohistoquímicas fiables. Las muestras con las agujas de vacío son de mayor calibre que las obtenidas con agujas de corte y se suele extraer un mayor número de cilindros (entre 6 y 24 dependiendo del tipo de lesión y de la guía empleada). A diferencia de la BAG, en la que es necesario introducir la aguja para la obtención de cada una de las muestras, en los sistemas de BAV los múltiples cilindros se extraen con una única introducción de la aguja.

La decisión de realizar BAG o BAV depende de varios factores: tipo de lesión radiológica (nódulo, densidad asimétrica, distorsión, microcalcificaciones sobre densidad o microcalcificaciones aisladas) y tipo de guía para realizar la punción (palpación, ecografía, estereotaxia o resonancia magnética). Si la lesión es visible por ecografía, lo más habitual es realizar BAG con control ecográfico. En algunos acúmulos de microcalcificaciones que sean visibles por ecografía (sobre todo cuando asientan sobre densidades), se prefiere también la guía ecográfica, ya que la lesión visible por ultrasonidos suele representar el componente infiltrante (las calcificaciones aisladas con mayor frecuencia corresponden al componente intraductal). Para aquellas lesiones que no sean visibles por ecografía (la mayoría de casos de microcalcificaciones y algunas distorsiones) se utiliza la guía estereotáxica y en estos casos se opta por agujas de vacío que permiten obtener muestras de tejido más representativas, asegurando la presencia de calcificaciones en la muestra. Cuando la biopsia de vacío logra extraer todas las calcificaciones de la lesión, el radiólogo colocará un marcador en el área de biopsia. Si la lesión únicamente es visible por RM se realizará la biopsia guiada por resonancia, empleando aguja de vacío e intentando obtener el mayor número de cilindros. Otro aspecto a tener en cuenta es el coste de la punción que es mayor en los casos de BAV que con los sistemas más sencillos de BAG.

La evaluación de la axila mediante ultrasonidos permite conocer el estado axilar pre-operatorio, siendo la Biopsia Selectiva del Ganglio Centinela (BSGC) la técnica estándar en los casos clínica y ecográficamente negativos. Si en la ecografía se detectan adenopatías "sospechosas", la punción de las mismas hace posible excluir aquellas pacientes que no se beneficiarán de la BSGC. Para la punción de adenopatías se puede emplear tanto la PAAF como la BAG.

IV. CORRELACIÓN RADIO-PATOLÓGICA EN BIOPSIAS PERCUTÁNEAS

Cuando el radiólogo extrae la muestra debe estar seguro que el material que se remite al servicio de anatomía patológica es representativo de la lesión a estudio. En el caso de que la muestra se haya obtenido con guía ecográfica, el control de la punción en tiempo real y la visualización macroscópica de los cilindros permite al radiólogo confirmar que la muestra es representativa. Si se ha realizado BAV de microcalcificaciones, la radiografía con las calcificaciones en los cilindros asegura la fiabilidad de la punción. Para facilitar la labor del patólogo, se recomienda que desde el servicio de Radiología se identifiquen los cilindros que contienen las calcificaciones. Una vez de que el radiólogo está seguro que la muestra obtenida es representativa de la lesión biopsiada, es necesario establecer una correcta correlación con el informe patológico (8). Si la muestra contiene calcificaciones pero en el informe patológico no constan, será necesario avisar al servicio de anatomía patológica para que realice más profundidades en los bloques hasta asegurar el diagnóstico.

Aunque las punciones con agujas gruesas y agujas de vacío son muy fiables, en algunas ocasiones, si no hay adecuada correlación radiopatológica, puede ser necesario repetir la punción para asegurar el diagnóstico. La práctica de reuniones multidisciplinarias puede alertar al patólogo y al radiólogo si se producen discrepancias.

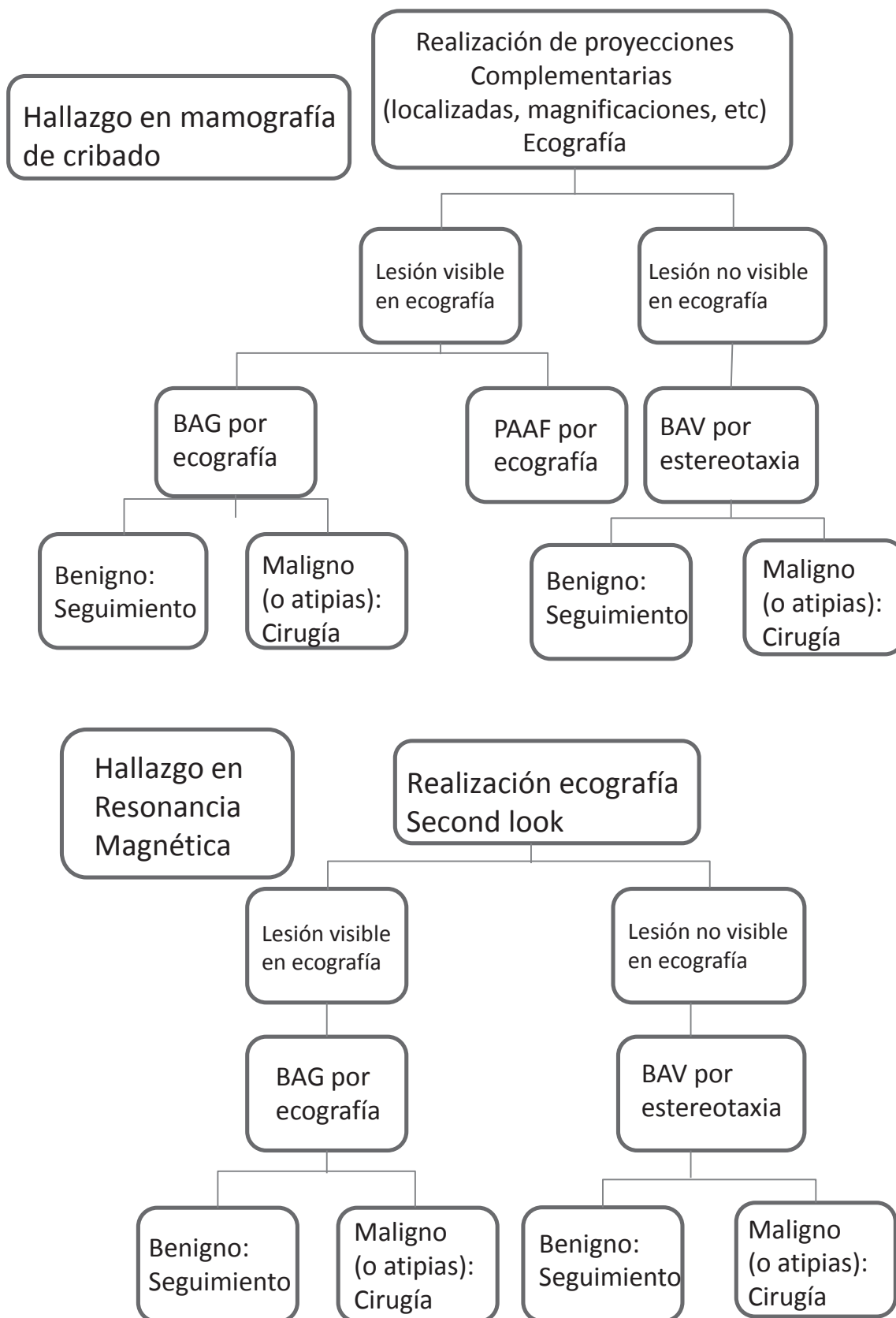
V. CORRELACIÓN RADIO-PATOLÓGICA CON LA PIEZA QUIRÚRGICA

Cuando se extirpa una lesión con guía radiológica, el radiólogo debe confirmar de forma intraoperatoria la inclusión de la lesión en la pieza, con márgenes adecuados. Una vez emitido el informe patológico se efectuará la correlación en cuanto a tamaño y número de lesiones. En el caso de que en la pieza quirúrgica no quede lesión residual se valorará si la misma pudo ser extirpada en la biopsia percutánea (fundamentalmente en casos de biopsia asistida por vacío), confirmando que en el lecho tumoral quedan los signos de la biopsia percutánea previa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Blamey RW, Cataliotti L et al. The requirements of a specialist breast unit. *Eur J Cancer* 2000; 36: 2288-93.
2. Wilson ARM, Marotti L, Bianchi S, Biganzoli L, Claassen S, Decker T, Frigerio A, et al. The requirements of a specialist Breast Center. *European Journal of Cancer* 2013; 49: 3579-87.
3. American College of Radiology. *Breast Imaging Reporting and Data System*. 2013
4. American College of Radiology. *Illustrated Breast Imaging Reporting and Data System (BIRADS)*, 3rd ed. Reston, VA: American College of Radiology.
5. Lazarus E, Mainiero MB, Schepps B, Koelliker SL, Livingston LS. BI-RADS Lexicon for US and Mammography: interobserver variability and Positive Predictive Value. *Radiology* 2006; 239: 385-91.
6. Berg WA, Campassi C, Langenberg P, Sexton MJ. Breast Imaging Reporting and Data System: Inter-and Intraobserver variability in feature analysis and final assessment. *AJR*. 2000; 174: 1769-77.
7. Perry N, Broeders M, de Wolf C, Törnberg S, Holland R, von Karsa L. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth edition – summary document. *Annals of Oncology* 2008; 19: 614-22.
8. Idowu, M; Hardy, LB; Souers, RJ; Nakhleh, RE. Pathologic Diagnostic Correlation With Breast Imaging Findings. A College of American Pathologists Q-Probes Study of 48 Institutions. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 53-60.

Algoritmo diagnóstico



BIRADS		Manejo	Probabilidad de cáncer
0	Se necesitan imágenes adicionales o comparar con estudios previos	Rellamada Ver estudios anteriores	No disponible
1	Negativa	Revisiones de cribado	Esencialmente 0%
2	Hallazgos Benignos	Revisiones de cribado	Esencialmente 0%
3	Probablemente benigno	Revisiones intermedias (6 meses) durante 2 años	>0% ≤2%
4	Sospechosa	Obtener muestra de tejido	4a: Baja sospecha >2%≤10% 4b: Sospecha intermedia >10%≤50% 4c: Alta sospecha:>50%≤95
5	Altamente sugestivo de malignidad	Obtener muestra de tejido	>95%
6	Malignidad probada mediante punción biopsia	Cirugía	

Tabla. Correlación entre la terminología empleada por los radiólogos y el diagnóstico histológico.

Masa espiculada	BIRADS 5	Carcinoma invasivo
Distorsión arquitectural	BIRADS 4	Cicatriz radial, Lesión esclerosante compleja Carcinoma invasivo
Nódulo bien definido	BIRADS 4	Benigno (más frecuente): Fibroadenoma, Hamartoma, Phyllodes Maligno: Carcinoma invasivo (alto grado), Carcinoma papilar, Carcinoma mucinoso, Carcinoma medular
Microcalcificaciones agrupadas ramificadas	BIRADS 4	Mastitis de células plasmáticas CDIS alto grado
Microcalcificaciones agrupadas en acúmulo	BIRADS 4	Necrosis grasa, FA, CDIS (grado intermedio/alto), CLIS
Microcalcificaciones finas agrupadas	BIRADS 4	Adenosis esclerosante, Quistes CDIS (bajo grado/intermedio)

CDIS: carcinoma ductal in situ, CLIS: carcinoma lobulillar in situ

Un resultado patológico benigno (C2/B2) debe correlacionarse con los hallazgos en imagen y el grado de sospecha radiológico para determinar si la muestra es representativa de la lesión o si es necesario repetir la punción.

Muestras diagnósticas: Citología y Biopsia.

Alicia Córdoba, Concepción De Miguel, Yerani Ruiz de Azua.

Complejo hospitalario de Navarra, Pamplona

I. INTRODUCCIÓN

El diagnóstico anatomopatológico prequirúrgico es hoy día una exigencia en el manejo de la patología mamaria. Su papel en las lesiones benignas es esencial para evitar cirugía innecesaria y reconducir a las pacientes a su régimen habitual de controles. En los casos de malignidad el objetivo es obtener un diagnóstico definitivo con rapidez para que se pueda completar el tratamiento quirúrgico o neoadyuvante. El diagnóstico prequirúrgico de la patología mamaria se basa en un triple enfoque: clínico, de imagen y morfológico. En el estudio anatomopatológico se incluyen: el estudio citológico, en su mayor parte mediante la punción aspiración con aguja fina (PAAF) y el estudio histopatológico, mediante biopsia por aguja gruesa (BAG) o biopsia asistida por vacío (BAV). Ante la posibilidad de que, tras el tratamiento neoadyuvante, la biopsia obtenida sea la única muestra del tumor disponible, resulta necesario su gestión racional y la obtención de material abundante.

Se utiliza también el estudio prequirúrgico de los ganglios axilares que se exploran mediante ecografía, realizándose BAG o PAAF,

Las técnicas de biopsia han ido reemplazando a los sistemas de PAAF, sobre todo en lesiones no palpables por la facilidad de localización de lesiones con control radiológico (ecografía, mamografía y resonancia magnética) y por el tipo de muestra obtenida, que permitirá realizar todas las técnicas requeridas para un correcto manejo prequirúrgico.

II. GUÍA PARA EL ESTUDIO DE LA BIOPSIA CON AGUJA

La obtención de material histológico con aguja se puede realizar en la consulta, en lesiones palpables, o en el servicio de radiodiagnóstico en aquellas no palpables, bajo control ecográfico o asistida por vacío (ver correlación radio-histológica). Se obtiene un pequeño volumen de tejido. Como desventajas frente a la citología, esta técnica resulta más costosa en tiempo y dinero que la PAAF. Se realiza bajo anestesia local. Si se realiza con control radiológico, se recomienda realizar 5 pases para masas y 10 pases para microcalcificaciones. Entre las ventajas frente a la citología, hay que destacar que permite distinguir entre lesiones in situ e invasoras, consigue una mejor caracterización de lesiones con microcalcificaciones, y permite realizar estudios de inmunohistoquímica y moleculares.

La interpretación de las biopsias requiere una correlación con los hallazgos clínicos y radiológicos que debe reflejarse en el volante de petición. Este debe contener los detalles de la paciente como edad, datos clínicos, hallazgos radiológicos, grado de sospecha radiológica (BIRADS), localización de la lesión.

Los protocolos de fijación deben ajustarse en cada laboratorio, aunque se propone la inclusión inmediata para evitar la isquemia fría que altera la expresión inmunohistoquímica. Se aconseja un máximo de 4

cilindros por cassette. También se han establecido los mínimos de fijación en 6 horas y el máximo hasta 72 horas (ASCO/CAP).

Las muestras con microcalcificaciones deben ser comprobadas con radiografía. Y esto no debe retrasar su introducción en el fijador. Se recomienda realizar tres cortes seriados, para facilitar la observación de las microcalcificaciones, y nuevos cortes hasta la confirmación microscópica de las microcalcificaciones.

III. INFORME –CATEGORIAS DIAGNÓSTICAS

El objetivo de la biopsia es completar la triple estimación diagnóstica (clínica + radiológica + histológica) y su finalidad es proporcionar un diagnóstico definitivo que se consigue en aproximadamente el 90% de los casos.

Los diagnósticos se clasifican en 5 categorías que vienen a completar la clasificación radiológica y cuyo objetivo es orientar la actitud terapéutica. Así hablamos de categorías: B1 hasta B5. No existe una categoría de material inadecuado porque no es posible determinar si corresponde a la lesión radiológica, y este punto debe resolverse en el comité multidisciplinar.

B1 (tejido normal)

Indica que se observan los elementos normales de la mama, ductos, acinos, estroma y tejido adiposo. Y puede corresponder tanto a parénquima normal como a un lipoma.

B2 (lesión benigna)

Cuando la biopsia contiene una lesión benigna. En este grupo se incluyen: fibroadenoma, cambios fibroquísticos, adenosis, adenosis esclerosante, ectasia ductal, y otras lesiones no parenquimatosas como abscesos y necrosis grasa. Se incluyen en esta categoría la hiperplasia ductal sin atipia/ hiperplasia columnar sin atipia/ cambio columnar sin atipia.

B3 (lesión con potencial maligno incierto)

Corresponde a lesiones benignas con riesgo potencial de acompañar a lesiones malignas. Así hasta un 25% podrán tener una neoplasia asociada. En esta categoría se ha subdividido en:

- B3a: lesiones sin atipia:
 - Cicatriz radial /lesión esclerosante compleja sin atipia:
 - Lesiones con área central de fibroelastosis, con atrapamiento de ductos. Ocasionalmente se acompañan de hiperplasia ductal.
 - Lesiones papilares: Estas lesiones son heterogéneas. Se incluye en esta categoría aquellas que no muestran hiperplasia y corresponden a papilomas.
 - Hiperplasia lobulillar: ocupación lobular focal por células pequeñas, monomorfas de citoplasma claro, discohesivas.

En esta categoría se propone una actitud terapéutica expectante sin cirugía, y con seguimiento, siempre que hayan sido evaluadas en el comité de mama de forma individualizada.

- B3b: Reúne a las lesiones con atipia:
 - Cambio columnar con atipia, con seriación nuclear. Desproporción núcleo/citoplasma y macro-nucleolos.
 - Hiperplasia ductal con atipia (HDA); distensión de ductos, monomorfismo celular, núcleos ligeramente aumentados. La lesión sugiere un carcinoma in situ de bajo grado, pero no reúne el tamaño suficiente para ser afirmado.
 - Hiperplasia columnar con atipia: revestimiento columnar con pseudoestratificación, atipia celular (desproporción núcleo/citoplasma, hiper cromasia, mitosis) y atipia arquitectural (luces cribiformes, expansión franca).
 - Atipia plana.

- Lesiones papilares: Si muestran atipia moderada o extensa proliferación. Ante la sospecha de carcinoma intraductal asociado. (Anexo 1)
- Carcinoma lobulillar in situ (CLIS): casos con ocupación completa y franca distensión y ocupación completa de los acinos. Las células son discohesivas, de crecimiento sólido. Los casos de CLIS florido/pleomórfico se asocian a necrosis y calcificación y deben contemplarse como B5 y ser tratados como carcinoma ductal in situ (CDIS).

Para todas estas lesiones se propone una extirpación quirúrgica, aunque deben ser consideradas de forma individualizada y reuniendo los datos radiológicos, clínicos e histológicos. (Anexo1)

B4 (sospechoso de ser maligno)

La lesión es sugestiva de ser maligna pero no puede confirmarse, por escasez del material o por problemas de fijación o artefacto. Si se observan grupos de células atípicas, sin relación con los cilindros inmersos en material hemorrágico, o si la cantidad de tumor es tan escasa que impide el estudio inmunohistoquímico se clasifican como B4.

B5 (maligno)

Se utiliza para los casos que son claramente malignos en la biopsia. Se debe de categorizar en in situ o infiltrante cuando sea posible y entonces se subdividen en: B5a-in situ, B5b-infiltrante, B5c- indeterminado.

Otros lesiones malignas no carcinoma (como linfoma, sarcoma) se clasifican como B5.

IV. GUÍA PARA EL ESTUDIO CITOLÓGICO DE LA PATOLOGÍA MAMARIA

El estudio citológico constituye un método rápido, sencillo y poco invasivo y con un alto valor predictivo, que forma parte de la mayoría de protocolos de actuación de las unidades de mama. Su rendimiento se ve incrementado, si los patólogos especializados en citopatología tienen un buen conocimiento de la histopatología de la mama, lo cual reducirá el número de diagnósticos falsos positivos (como puede suceder en artefacto de fijación/tinción, atipia secundaria a inflamación y radioterapia, lesiones papilares, mucinosas, lesión ductal esclerosante, adenosis microglandular y la necrosis grasa) y falsos negativos (como puede suceder en muestras hipocelulares, neoplasia lobulillar, el carcinoma in situ y el carcinoma de bajo grado).

Es importante establecer unas categorías diagnósticas citohistológicas de las muestras así obtenidas, con criterios estrictos, para poder encuadrar cada una de las muestras en una categoría concreta. Esto nos permitirá valorar con mayor precisión la eficacia de las diferentes técnicas diagnósticas. La mayoría de los países europeos utilizan un sistema de categorías diagnósticas para las PAAF de mama.(C1-C5)(1,2), que se clasifican como:

C1 Inadecuada: Muestra escasa, acelular ó artefactada.

El término inadecuado tiene un gran componente subjetivo y depende de la experiencia del patólogo.

Escasa: Menos de cinco grupos de células epiteliales.

Artefactada:

- Muestra estirada por excesiva presión en la extensión.
- Muestra seca por retraso en la fijación o por secarse muy despacio.
- Extensión gruesa, con mucho material amontonado y superpuesto o con mucha sangre.

C2 Benigna: Muestra adecuada sin evidencia de malignidad.

C3 Atipia probablemente benigna: Muestra benigna pero con ciertas características no comúnmente vistas en un aspirado benigno: pleomorfismo nuclear, pérdida de cohesión celular, cambios celulares debidos a la influencia hormonal. Se admite que un 20% de los casos así diagnosticados sean malignos.

C4 Sospechosa de malignidad: Material muy sugestivo pero no diagnóstico de malignidad, por tres razones:

- Muestra escasa o artefactada.
- Muestra con algunos criterios de malignidad pero sin células claramente malignas.
- Muestra con la mayor parte del material con criterios de benignidad y sólo alguna célula maligna.

Se admite que el 80% de los casos así diagnosticados sean malignos.

C5 Maligna: Muestra adecuada y con células con criterios característicos de carcinoma u otras lesiones malignas.

Lo importante para un servicio de patología es saber si sus diagnósticos citológicos se encuentran dentro de unos estándares mínimos establecidos, ya que sino la decisión terapéutica no podrá basarse en el diagnóstico citológico.

Estándares mínimos sugeridos:

- Sensibilidad absoluta: > 60%
- Sensibilidad completa: >80%
- Especificidad: >60% (incluyendo los casos no biopsiados)
- Valor predictivo positivo: >98%
- Índice de falsos negativos: <5%
- Índice de falsos positivos: <1%
- Índice de inadecuados: <25%
- Índice de inadecuados en muestras de carcinomas: <10%
- Índice de sospechosos: <20%.

Estas cifras dependen de la técnica de aspiración y de la experiencia del aspirador. Las cifras están interrelacionadas y la mejora de unas afecta a otras. El intento de reducir el índice de inadecuados aumentará el de sospechosos, mejorará la especificidad incrementando el índice de falsos negativos.

En el momento actual, tal como se refleja en un estudio reciente realizado en nuestro país (3), el estudio citológico se realiza sobre todo para establecer el estatus ganglionar prequirúrgico para la indicación de la técnica de la biopsia selectiva de ganglio centinela (4-9).

BIBLIOGRAFIA

1. Ellis IO1, Humphreys S, Michell M, Pinder SE, Wells CA, Zakhour HD; UK National Coordinating Committee for Breast Screening Pathology; European Commission Working Group on Breast Screening Pathology. Best Practice No 179. Guidelines for breast needle core biopsy handling and reporting in breast screening assessment. *J Clin Pathol.* 2004 Sep; 57(9):897-902.
2. Pathology reporting of breast disease A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology. NHSBSP Publication No 58 January 2005.
3. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis Fourth Edition. Further information on the Health & Consumer Protection Directorate-General is available at: http://europa.eu.int/comm/dgs/health_consumer/index_en.htm
4. Rakha EA1, Lee AH, Jenkins JA, Murphy AE, Hamilton LJ, Ellis IO. Characterization and outcome of breast needle core biopsy diagnoses of lesions of uncertain malignant potential (B3) in abnormalities detected by mammographic screening. *Int J Cancer.* 2011 Sep 15;129(6):1417-24. doi: 10.1002/ijc.25801. *Epub* 2011 Feb 11.

5. De Beça FF¹, Rasteiro C, Correia A, Costa S, Amendoeira I. Improved malignancy prediction by B3 breast lesions subclassification. *Ann Diagn Pathol.* 2013 Oct;17(5):434-6. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2013.05.003. Epub 2013 Jun 15.
6. Lakhani, S.R., Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J. WHO Classification of Tumours, Volume 4 IARC WHO Classification of Tumours, No 4
7. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth Edition Supplement. Editor C.A. Wells.
8. European Commission. European Guidelines for Quality Assurance in Mammography Screening (ed 4). Sheffield, UK. Office for official publications of the European Communities. 2006, pp 238-248.
9. Kocjan G, et col. The role of breast FNAC in diagnosis and clinical management: a survey of current practice. *Cytopathology* 2008,19: 271-278
10. Tresserra F, Castella M, Fernandez-Cid C, Fabra G, Dominguez M, Ramos C y Martinez-Lanao MA. Encuesta nacional sobre el estado actual del estudio citológico de la patología mamaria. *Patología* 2014, 47(3): 142-148.
11. Kocjan G, et col. The role of breast FNAC in diagnosis and clinical management: a survey of current practice. *Cytopathology* 2008,19: 271-278.-
12. Leenders M, Richir M, Broeders M, Moorman G, Mollema R, Lopes Cardozo A, et al. Axillary staging by ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology in breast cancer patients. Still up to day?. *Breast J.* 2013;19: 637-42.
13. Ahn HS, Kim SM, Jang M, La Yun B, Kim SW, Kang E, et al. Comparison of sonography with sonographically guided fine-needle aspiration biopsy and core-needle biopsy for initial axillary staging of breast cancer. *J Ultrasound Med.* 2013; 32: 2177-84.
14. Mainiero MB. Regional lymph node staging in breast cancer: The increasing role of imaging and ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology in breast cancer patients. *Radiol Clin North Am.* 2010; 46: 989-97.
15. Sauer T, Karesen R. The value of preoperative ultrasound guided fine-needle aspiration cytology of radiologically suspicious axillary lymph nodes in breast cancer. *Cytojournal.* 2014;11:26
16. Jing X, Wey E, Michael CW. Diagnostic value of fine needle aspirates processed by ThinPrep® for the assessment of axillary lymph node status in patients with invasive carcinoma of the breast. *Cytopathology* 2013; 24:372-6.

ANEXO 1
Características de lesiones columnares y de Hiperplasia Ductal Atípica (HDA) / Carcinoma Ductal In Situ (CDIS)

Según - European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis Fourth Edition Supplement

Característica	DIAGNÓSTICO			
	Cambio de células columnares	Hiperplasia de células columnares	Lesión de células columnares con atipia(LCC) **	HDA/CDIS
Topografía	Unidad tubulolobulillar (UTDL), acinos pueden estar ligeramente dilatados o de tamaño normal	UTDL, acinos pueden estar ligeramente dilatados o de tamaño normal	UTDL, frecuentes acinos microquística-mente dilatados	UTDL +/- ductos adyacentes
Forma de espacios acinares	Margen luminal de forma irregular	Margen luminal de forma irregular	Frecuentes espacios acinares redondos, con margen interno liso	Frecuentes acinos redondos, pero con estructuras complejas extendiéndose a la luz (véase arquitectura abajo)
Arquitectura	Plana	Crestas y montículos	Plana o con crestas/ montículos, no complejos	Compleja con estructuras micropapilares o cribiformes
Estratificación/multicapa	No presente	Presente	Puede estar presente	Puede estar presente
Secreciones luminales con frecuentes microcalcificaciones	Presentes	Presentes	Presentes	Pueden estar presentes
Tamaño nuclear	Pequeño a mediano	Pequeño a mediano	Pequeño a mediano	Pequeño a mediano
Forma nuclear	Oval, elongada	Oval, elongada	Frecuente, pero no siempre redonda	Redonda
Textura nuclear	Suave	Suave	Puede haber patrón de cromatina moteada	patrón de cromatina moteada
Pleomorfismo*	Uniforme	Uniforme	De uniforme a moderadamente pleomórfico	Uniforme

	DIAGNÓSTICO			
Posición de los núcleos dentro de la célula	Situados basalmente	Situados basalmente	Frecuentemente central	Central
Nucleolos	No conspicuos	No conspicuos	Evidentes	Pueden estar evidentes
Mitosis	Generalmente ausentes	Generalmente ausentes	Generalmente escasas	Generalmente escasas
Extensión	Focal o extensa	Puede ser focal o extensa	Puede ser un área focal dentro del fondo de LCC no atípica	Puede ser un área focal en el fondo de LCC no atípica. Por definición HDA es pequeña/microfocal

* Si hay marcado pleomorfismo entonces la lesión no cae en el espectro de LCCL pero debería ser considerada como CDIS

Estudio de muestras quirúrgicas

Alicia Córdoba.

Complejo hospitalario de Navarra, Pamplona

I. INTRODUCCIÓN

El correcto manejo quirúrgico y terapéutico de las pacientes con cáncer de mama depende en gran medida de la información que se deriva del informe histopatológico. La elaboración de un informe completo y de calidad comienza en la recepción y preparación de la pieza o biopsia quirúrgica.

Las piezas que proceden de los programas de detección precoz presentan más dificultades por tratarse de tumores pequeños, no palpables, y con frecuencia lesiones complejas.

La utilización de la resonancia magnética ha incrementado la presencia de lesiones con poco reflejo en la mamografía (carcinoma lobulillar) y de lesiones múltiples y/o multifocales. La introducción de la neoadyuvancia dificulta el estudio macro y microscópico de las piezas, especialmente la selección de las áreas del lecho tumoral.

La estandarización de los programas de prevención y de los protocolos quirúrgicos y terapéuticos, nos exige uniformidad en la evaluación de los casos y de los informes. Sin embargo en todas las guías consultadas siempre la decisión final respecto a la mayor parte de los temas se deja al juicio de patólogo.

II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

El tipo de resección depende, en general, del diagnóstico preoperatorio (triple determinación: clínica + radiológica + histológica). El diagnóstico debe realizarse mediante biopsia o PAAF, y no se recomienda derivar el diagnóstico histológico al acto quirúrgico mediante biopsia intra-operatoria. Si no existe un diagnóstico preoperatorio definitivo, se recomienda realizar una biopsia quirúrgica limitada a la lesión, que deberá ser marcada con arpón en caso de lesión no-palpable. Este mismo principio de economía se recomienda para las lesiones benignas, para evitar los defectos cosméticos. Para las lesiones malignas el tipo de cirugía dependerá de la naturaleza, tamaño, localización, edad de la paciente, tratamiento posterior y desde luego de la elección de la paciente.

Los tipos de resección son:

- Resección parcial: que no incluye toda la mama, y en general no incluye la areola y pezón. Se dividen en mastectomía parcial, tumorectomía o cuadrantectomía. Estas pueden estar guiadas con arpón, en caso de lesiones no palpables, o sin arpón cuando la escisión compromete a lesiones palpables.
- Mastectomía total: con extirpación de todo el tejido mamario. Se subdivide en
 - Simple: toda la mama sin axila
 - Radical modificada: incluye toda la mama y la axila. Algunas veces fragmentos de músculo pectoral.
- Hay otros tipos menos frecuentes: conservadora de piel o de pezón, y la mastectomía radical, casi en desuso.

III. PREPARACIÓN DE LAS PIEZAS Y TALLADO

El volante de solicitud debe incluir toda la información necesaria de la paciente, de la lesión extirpada y del procedimiento quirúrgico. La pieza debe llegar marcada y orientada desde el quirófano (mediante hilos, grapas o tinta) Son aconsejables los hilos de cierta longitud que facilitan su visualización después del marcaje de los bordes con tinta. Si se recibe más de una pieza es necesario conocer la relación espacial entre ellas. La lesión extirpada debe recibirse entera sin cortes.

Las piezas de resección parcial pueden ser estudiadas radiológicamente para determinar la presencia de la lesión principal y su localización, otras lesiones secundarias y la situación de los bordes. Este procedimiento debe realizarse en el menor tiempo posible, para acortar la isquemia fría y su efecto sobre las células tumorales, preservando así la capacidad antigénica y las moléculas, que serán analizadas en los estudios inmunohistoquímicos y moleculares. El tiempo hasta la fijación en formol debe reducirse a 1 hora. En este intervalo debe realizarse la selección de material para banco de tumores, bajo supervisión del responsable de la pieza y teniendo en cuenta que la toma de material nunca puede comprometer la evaluación completa de la lesión.

La pieza debe ser pintada con tinta china por toda la superficie que corresponde al borde quirúrgico y posteriormente pasada por ácido acético (vinagre común). La fijación en formol es esencial para la preservación de los detalles morfológicos que configuraran, entre otros, el grado histológico. Debe realizarse sumergiendo la pieza en formol tamponado en un volumen por lo menos doble al del fragmento.

Resección parcial:

Debe ser orientada por el cirujano. Una vez marcados los bordes, se pueden realizar cortes completos separados por gasas, o cortes profundos para facilitar la fijación sin perder la orientación. Se deben proporcionar el tamaño en tres dimensiones de la pieza y de la lesión y la distancia macroscópica a los bordes. El número de bloques a realizar dependerá del tamaño de la pieza y de la lesión. Se propone la inclusión "in toto" de piezas de menos de 3 cm. En las mayores, se aconseja la inclusión completa de la lesión macroscópica. Se recomienda un corte completo del tumor en un cassette para su medida, cuando sea posible, y cortes del tumor y del tejido circundante hasta los márgenes para evaluar la relación con los bordes quirúrgicos. Además también se deben incluir otras lesiones detectadas macroscópicamente.

Piezas de mastectomía:

Debe ser orientada por el cirujano y resulta recomendable un gráfico con la localización de la lesión. Se debe proceder con la mayor rapidez al tinte, corte y colocación en formol. Debido al tamaño generalmente grande, los cortes han de ser profundos (0,5-1 cm) siguiendo los ejes 6-12 horas. Además, realizar un corte completo de la lesión macroscópica, para que la fijación sea rápida y completa. El pezón y la areola se estudian mediante corte perpendicular al conducto galactóforo y paralela al orificio central en el pezón. Se pueden hacer cortes adicionales del resto de los cuadrantes. Si no se observa lesión macroscópica se requiere palpación para detectar áreas de mayor consistencia. Seleccionar también las áreas blanquecinas de fibrosis y desechar las áreas amarillas de tejido adiposo.

IV. INFORME HISTOPATOLOGICO

LESIONES MALIGNAS NO INVASIVAS

Carcinoma ductal in situ (CDIS o carcinoma intraductal,) es una proliferación epitelial maligna que se ubica restringida a los conductos y acinos mamarios, sin rebasar la membrana basal.

Grado

Se clasifican en tres grados basados en el tamaño nuclear, arquitectura de la proliferación (polarización de los núcleos) y necrosis. El tamaño nuclear se evalúa bajo la lente de 40 aumentos y se deben comparar los núcleos del CDIS con los núcleos de las células ductales normales y/o eritrocitos.

	Grado I	Grado II	Grado III
Pleomorfismo	Monomorfismo	Pleomorfismo moderado	Gran pleomorfismo
Tamaño nuclear	1.5 ó 2 veces eritrocito/ célula ductal normal	Entre 2 y 3 veces	> 3 veces eritrocito/ célula ductal normal
Mitosis	Escasas	Intermedio	Frecuentes y atípicas
Polarización nuclear	Basal	Cierta polaridad	Sin polaridad
Patrón	Micropapilar/cribiforme	Sólido/ micropapilar/ cribiforme	Sólido
Necrosis	Raro	Frecuente y Focal	Focal/comedo

La necrosis en el CDIS se correlaciona con las microcalcificaciones, porque es el material necrótico el que, en general, se calcifica. La necrosis se clasifica en:

- Central (o comedonecrosis): la necrosis se ubica en la porción central y ocupa la mayoría del diámetro del ducto. Persiste un ribete celular periférico de crecimiento sólido y de alto grado.
- Focal: focos pequeños de necrosis no visibles con poco aumento.

Subtipos histológicos (WHO, 2012)

- Carcinoma ductal in situ
- Neoplasia lobulillar in situ:
 - Carcinoma lobulillar in situ:
 - Clásico
 - Pleomórfico
- Papiloma intraductal con carcinoma ductal in situ
- Papiloma intraductal con carcinoma lobulillar in situ
- Carcinoma papilar intraductal
- Carcinoma papilar sólido in situ
- Variantes poco frecuentes: apocrino, neuroendocrino, fusocelular, escamoso, de células claras, En anillo de sello.

Tamaño tumoral:

Aunque el tamaño tumoral del carcinoma in situ no es un requisito para la calificación TNM (pT), es un factor importante para el manejo del paciente. La extensión se correlaciona con probabilidad de lesión residual, afectación de márgenes, recidiva local y la posibilidad de lesión infiltrante. La extensión del CDIS es una estimación del volumen de tejido afectado. Las dificultades de su evaluación precisa radican en la diseminación del CDIS de carácter discontinuo en un complejo sistema tridimensional de conductos ramificados, que se distorsionan en los procedimientos diagnóstico (biopsia), quirúrgico y radiológico postquirúrgico (compresión).

Se proponen los siguientes intervalos (CAP, 2013):

- Hasta 20 mm (estudio histológico completo recomendado)
- Entre 20 y 40 mm (estudio completo posible pero difícil)
- Más de 40 mm (estudio completo impracticable)

Se proponen sistemas de cálculo del tamaño:

- Diámetro total en lesión pequeña si está incluido en un bloque
- Suma de bloques con CDIS si se utilizan cortes secuenciales
- Si los cortes no son secuenciales con la formula (numero de bloques x 0,4cm= extensión).

LESIONES MALIGNAS INFILTRANTES

Se trata de crecimiento tumoral de carácter infiltrante, que en general se acompaña de crecimiento intraductal asociado. En este caso se debe atender inicialmente al subtipo histológico que proporciona información pronóstica y valor predictivo.

Subtipos histológicos (WHO, 2012)

1. Carcinoma infiltrante:
 - Carcinoma pleomórfico
 - Carcinoma con células gigantes tipo osteoclasto
 - Carcinoma con rasgos coriocarcinomasos
 - Carcinoma con patron melanocítico
2. Carcinoma lobulillar infiltrante
3. Carcinoma tubular
4. Carcinoma cribiforme
5. Carcinoma mucinoso
6. Carcinoma con patron medular:
 - Carcinoma medular
 - Carcinoma medular atípico
 - Carcinoma infiltrante con patrón medular
7. Carcinoma con diferenciación apocrina
8. Carcinoma con diferenciación en anillo de sello
9. Carcinoma micropapilar infiltrante
10. Carcinoma metaplásico SAI
 - Carcinoma adenoescamoso de bajo grado
 - Carcinoma metaplásico tipo fibromatosis
 - Carcinoma escamoso
 - Carcinoma metaplásico con:
 - Diferenciación condroide
 - Diferenciación ósea
 - Otros tipos de diferenciación mesenquimal
 - Carcinoma metaplásico mixto
 - Carcinoma mioepitelial
11. Carcinoma con patrón neuroendocrino:
 - Tumor neuroendocrino bien diferenciado.
 - Carcinoma neuroendocrino poco diferenciado (carcinoma célula pequeña)
 - Carcinoma con diferenciación neuroendocrina.
12. Carcinoma secretor
13. Carcinoma papilar invasor
14. Carcinoma de celulas acinares

15. Carcinoma mucoepidermoide
16. Carcinoma polimorfo
17. Carcinoma oncocítico
18. Carcinoma rico en lípidos
19. Carcinoma rico en glucógeno
20. Carcinoma sebáceo
21. Tumores tipo glandula salivar/anejo cutáneo
22. Carcinoma papilar encapsulado/con invasión
23. Carcinoma papilar solido infiltrante
24. Carcinoma microinvasor
25. Otros:
 - a) Sarcomas (liposarcoma, angiosarcoma, osteosarcoma, leiomiomasarcoma)
 - b) Tumores fibroepiteliales malignos (tumor phillodes maligno)
 - c) Enfermedad de Paget
 - d) Linfomas
 - e) Metástasis de tumores extramamarios

Hablaremos de:

Subtipos puros: cuando el 90% de la superficie tumoral corresponde a un subtipo concreto. Es muy relevante si este subtipo tiene asociado un pronóstico concreto: buen pronóstico o mal pronóstico.

Mixtos: cuando el tumor no presenta ningún subtipo especial en la mitad de la lesión será simplemente un carcinoma infiltrante, si entre el 10 y el 40 % muestran un tipo especial hablaremos de carcinoma mixto infiltrante + subtipo especial o carcinoma infiltrante + carcinoma lobulillar.

Localización del tumor

Conviene reflejar en el informe la localización del tumor y/o tumores, aunque su disposición suele ser informada por el cirujano. A veces la ubicación en la pieza quirúrgica es un poco diferente a su localización "in vivo" posicionado sobre la parrilla costal. Cuando la extirpación se produce tras neoadyuvancia, y no existe tumor infiltrante residual, se refiere su localización junto a la marca radiológica como lecho tumoral.

Tamaño tumoral

El tamaño tumoral en uno de los factores pronósticos más importantes. Para su determinación hay que seguir unas recomendaciones que se recogen de la AJCC, CAP, ECWGBSP. El diámetro máximo de un carcinoma infiltrante se usa para determinar el pT (AJCC). Por convención, se mide el diámetro en centímetros y la distancia al margen en milímetros. Se redondea a la baja cuando el tumor supera ligeramente un punto de corte. Así si un carcinoma mide 1,01 cm, el diámetro es 1.0 y pT1b. Para los tumores menores de 2 cm la determinación más exacta es la realizada sobre un corte histológico. Por lo que se recomienda realizar un corte completo de la lesión. Prestar atención a las lesiones ovoideas, para seleccionar el diámetro máximo. Para lesiones de más de 2cm, es más exacta la medida macroscópica.

Algunas precisiones para situaciones concretas:

- Carcinoma infiltrante con CDIS: se mide el área máxima de infiltración del estroma, no se incluye el CDIS. Si los focos de carcinoma infiltrante son múltiples entremezclados con CDIS se mide el diámetro completo.
- Carcinomas pequeños que han sido biopsiados: si la lesión es menor a 10 mm, puede que el diámetro sea mayor en la biopsia-core que en la pieza. Se considera el diámetro mayor y nunca se suman ambos diámetros. Si la zona de biopsia es extensa, y con amplia reacción, habrá que valorar el diámetro de la pieza escisional, biopsia-core y el tamaño radiológico.
- Carcinomas múltiples: utilizar únicamente el diámetro del mayor, y añadir el modificador "m" tras la letra T, entre paréntesis. Se recomienda no obstante informar del tamaño del resto de nódulos para tener una mejor valoración del volumen tumoral total.

- Carcinomas infiltrantes múltiples muy próximos (<5mm), hay que estudiar el tejido entre ambos. Si en esa área intermedia detectamos crecimiento tumoral se deben considerar como un único nódulo.
- Carcinoma infiltrante dividido en varios fragmentos se anotara el diámetro máximo. Si el Carcinoma aparece atravesado por el plano quirúrgico. Se mide el diámetro máximo en la pieza y se añade una nota de que el tamaño total puede ser mayor. Seleccionar el calificador pTX.
- Carcinoma microinfiltrante: se define como uno o más focos de carcinoma infiltrante asociados a CDIS, y ninguno debe rebasar 1 mm de diámetro (aproximadamente 2 campos de gran aumento). En general se asocia a CDIS de grado III (tipo comedocarcinoma) o CLIS de tipo pleomórfico. Las células del tumor deben alcanzar el estroma no-especializado y acompañarse de reacción desmoplásica. No se debe confundir la invasión con la extensión acinar de la neoplasia. Se deben desechar los grupos redondeados y buscar las células infiltrantes de carácter aislado o en hileras. Si existen múltiples focos se aplica el criterio general y solo se mide el mayor. La utilización de inmunohistoquímica para células mioepiteliales es útil para la confirmación del carácter infiltrante y su medida.
- Tras tratamiento neoadyuvante se añade el calificador "y", se debe realizar en una combinación de los datos macroscópicos y microscópicos. En general, si hay regresión la lesión muestra múltiples focos en la periferia del lecho tumoral (con edema, fibrosis y proliferación vascular), entonces se sigue la regla general del mayor foco continuo y el calificador "m".

Grado histológico

El grado histológico proporciona una información pronóstica muy importante. Su utilización requiere la estricta adhesión a los protocolos aceptados. El método fue descrito inicialmente por Elston y Ellis(1991). Para su evaluación se estudian tres elementos de la morfología tumoral: la formación de túbulos/acinos/ formación glandular; atipia nuclear/pleomorfismo y el número de mitosis. Todos los subtipos de carcinomas pueden ser graduados mediante este sistema y ofrece información pronóstica en todos ellos. Cada rasgo morfológico se valora de 1 a 3. La suma resultante define los tres grados.

- Grado 1: 3-5
- Grado 2: 6-7
- Grado 3: 8-9

Formación de túbulos: Se debe valorar toda la extensión tumoral para establecer semicuantitativamente la proporción de tumor con formación de lúmenes. Se evalúa con bajo aumento.

1. >75% del tumor forma túbulos
2. 10 -75% del tumor forma túbulos
3. >10% del tumor forma túbulos

Atipia nuclear/pleomorfismo: Se evalúa en la periferia y así se equilibra el efecto del margen de crecimiento y de las zonas centrales menos activas. Se reserva el 1 para los tumores con células pequeñas de aspecto inocente, y el score 3 para los casos con atipia obvia.

1. Núcleos de tamaño ligeramente superior a la célula ductal normal, cromatina uniforme, mínima variación de tamaño. Se considera de 1.5 o 2 veces el diámetro del eritrocito/célula ductal normal
2. Moderada variación del tamaño nuclear. Diámetro nuclear entre 2 y 3 veces el diámetro de un eritrocito o célula ductal normal
3. Marcada variabilidad en el tamaño nuclear, y un diámetro que supera más de 3 veces en de un eritrocito/célula ductal normal

Mitosis: La medida precisa del número de mitosis requiere una correcta fijación del tejido tumoral. El número total se contabiliza en 10 campos de gran aumento (x40). El tamaño de esta extensión varía en función de la apertura del campo del microscopio. Para ello se utilizan tablas donde debemos localizar las características de nuestro microscopio para determinar las mitosis que corresponden a cada score. Se debe realizar el conteo en la periferia del tumor donde la actividad proliferativa es mayor y las zonas más activas detectadas con poco aumento. Si hay áreas con diferente actividad, buscar las zonas más semejantes y con más mitosis. Si el numero obtenido está muy próximo al límite del score, contar algunos campos más para

determinar con más precisión el score correspondiente. Solo contabilizar las imágenes claras de mitosis, y descartar las figuras dudosas con apoptosis u otros artefactos.

Carcinoma in situ asociado

La asociación de carcinoma infiltrante con carcinoma in situ aumenta el riesgo de recidiva local y de afectación de márgenes, en mujeres que se tratan con cirugía conservadora. Es importante reflejar en el informe las características del componente in situ cuando éste es predominante (carcinoma microinfiltrante-carcinoma infiltrante con extenso componente intraductal).

El Carcinoma infiltrante con extenso componente intraductal se define como:

1. Cuando el componente in situ supone más del 25% de la superficie total de la lesión (infiltrante + in situ)
2. Cuando se trata de un carcinoma in situ extenso con un pequeño carcinoma infiltrante.

Invasión linfovascular

Es importante resaltar si existe o no invasión linfovascular, porque se considera un rasgo de mal pronóstico, que aumenta el riesgo de recidiva y reduce la supervivencia. Resulta difícil diferenciar la invasión linfovascular del artefacto de retracción. Este último depende de la calidad de la fijación y también del grado del tumor (mayor retracción en carcinomas grado 3).

Algunos datos pueden ayudar a la precisión de su diagnóstico:

- El espacio en que están inmersas las células tiene un anillo de endotelio.
- El espacio ocupado por tumor se halla próximo a otros canales vasculares.
- Presencia de hematíes o linfocitos en la luz además de los trombos tumorales.
- La forma del espacio es igual al del trombo en caso de artefacto de retracción y es diferente en caso de invasión linfovascular.
- Utilizar una inmunotinción para D2-40, o mejor CD31(que marca más intenso)

Márgenes

El establecimiento de los márgenes es de gran importancia sobre todo en las piezas de resección parcial, y su estudio histológico correcto depende del tallado minucioso y de una correcta orientación de la pieza. Todos los márgenes deben ser estudiados para descartar su afectación por tumor (10). En el informe debe reseñarse si hay algún borde afecto y la distancia al más próximo. Resulta necesario definir además la distancia del tumor hasta los diferentes márgenes.

Se define un margen como *positivo* si la tinta se posiciona sobre el carcinoma. Puede ser útil reflejar en el informe la *extensión* del margen afecto:

- Focal: 1 zona de <4mm
- Moderado: 2 o más zonas afectadas
- Extensa: en una extensión superior a 5mm

Tras la publicación reciente del consenso alcanzado por la Sociedad Americana de Cirugía y la Sociedad Americana de Oncológica Radioterápica sobre los bordes quirúrgicos, para cirugía conservadora y radioterapia de toda la mama (WBRT), se excluye de la recomendación pacientes tratadas con irradiación parcial. Precisan que:

- La amplitud o anchura del margen negativo no reduce el riesgo de recidiva local.
- En las pacientes que no reciban terapia sistémica, no hay evidencia de que sea necesaria mayor amplitud de los márgenes.
- No se recomienda márgenes más amplios (que sin tinta) en función de los subtipos moleculares.
- No están indicados márgenes más amplios en carcinoma lobulillar.
- Carcinoma lobulillar in situ en el borde no es indicación de re-escisión.
- La indicación en caso de carcinoma in situ pleomórfico no puede realizarse por el momento (series pequeñas, retrospectivas, pocos eventos..).

- No hay evidencia de que la amplitud de los márgenes reduzca el riesgo de recidiva local en pacientes jóvenes (<40 años).

Afectación de piel y músculo

La afectación de piel y músculo en la pieza de resección debe ser incluido en el informe, ya que forma parte del sistema de estadificación TNM, y es importante para la planificación del tratamiento.

La piel puede verse afectada de los siguientes modos:

- infiltración de la epidermis: enfermedad de Paget del pezón.
- Infiltración directa de la dermis sin ulceración.
- Infiltración de la dermis con ulceración, que se clasifica como pT4b.
- Nódulos cutáneos satélites, que se clasifica como pT4b.
- Infiltración linfovascular dérmica, si se asocia con clínica de carcinoma inflamatorio se clasifica como pT4d.

La presencia de *músculo* en la pieza quirúrgica supone que el margen profundo ha atravesado la fascia del pectoral. Si el músculo aparece infiltrado por tumor debe ser descrito en el informe pues constituye indicación de radioterapia postoperatoria.

Respuesta al tratamiento neoadyuvante

La respuesta al tratamiento adyuvante es un factor pronóstico importante para determinar el tiempo libre de enfermedad y la supervivencia global. El sistema AJCC de estadificación añade el prefijo "y" antes el calificador pT, para reflejar esta contingencia.

La mayor parte de los factores predictivos del tumor (grado, tamaño, tipo histológico, RE, RP, Ki-67 y Her2) se presentan muy alterados por el efecto de la quimioterapia, por lo que se recomienda considerar como definitivos los estudiados en la biopsia con aguja gruesa. Se recomienda repetir la evaluación de RE, PR y Her 2 tras la neoadyuvancia (CAP) repetir la evaluación de Her2 tras la neoadyuvancia.

Existen varios sistemas de evaluación de respuesta, entre los más destacados el propuesto por la misma AJCC, el propuesto por Millar-Payne y más recientemente el de Pinder.

Respuesta al tratamiento del tumor: La comparación con la biopsia previa a veces no es posible y esta medida resulta muy subjetiva

1. Respuesta histopatológica completa, si no hay:
 - Carcinoma residual
 - No hay carcinoma infiltrante residual pero hay carcinoma in situ.
2. Respuesta parcial, si:
 - Mínima enfermedad residual / mínimo resto de tumor (< 10% de tumor residual)
 - Evidencia de respuesta al tratamiento, tumor residual de entre 10–50%
 - > 50% de la celularidad del tumor persiste, cuando se compara con la biopsia previa, aunque son evidentes las modificaciones por el tratamiento.
3. Sin evidencia de respuesta.

Respuesta al tratamiento de los ganglios linfáticos:

1. Sin evidencia de metástasis y sin cambios por tratamiento.
2. Sin evidencia de metástasis, pero cambios evidentes por el tratamiento (fibrosis, necrosis).
3. Metástasis presentes pero cambios evidentes por el tratamiento.
4. Metástasis presentes, sin cambios evidentes por el tratamiento.

ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

Los ganglios linfáticos se estudian en la mayoría de las pacientes con carcinoma de mama. Su estudio (ganglios axilares y ganglios de mama interna) se realiza con el objetivo de la estadificación, pues su afec-

tación por el carcinoma es el indicador pronóstico más potente para determinar la indicación de tratamiento sistémico adyuvante. Los tipos de ganglios analizados son:

- Ganglios centinela (ver apartado ganglio centinela).
- Ganglios axilares (ver apartado pieza de linfadenectomía)
- Ganglios intramamarios
- Ganglios de mamaria interna, supraclaviculares, infraclaviculares.

Preparación y tallado de la pieza de linfadenectomía:

Puede ser remitida como pieza aislada o como parte de una resección parcial o mastectomía radical modificada. La pieza no precisa ser marcada con tinta, y debe ser incluida en formol. La búsqueda de ganglios debe realizarse sobre el tejido fijado, y utilizando la inspección y la palpación. En ocasiones el cirujano puede marcar la pieza en los tres niveles ganglionares de la axila o simplemente marcar el apex o la cola de la pieza. En el momento del tallado:

- Se deben incluir todos los ganglios aislados.
- Los ganglios que resultan macroscópicamente positivos, deben ser medidos. Se debe incluir las zonas que sugieran desbordamiento capsular y las zonas de afectación macroscópica en la grasa (se consideran como ganglios).
- Los ganglios macroscópicamente negativos:
 - a) Método estándar mínimo:
 - Todos los ganglios linfáticos identificados deben ser examinados histológicamente.
 - El método deberá garantizar que el número total de los ganglios debe ser evaluado; esto requiere un mínimo examen de al menos un corte de tejido de cada ganglio
 - Este estándar mínimo permite el examen de múltiples ganglios linfáticos como bloques compuestos.
 - a) Metodología ideal:
 - El objetivo es detectar las metástasis de más de 2mm (macrometástasis), para ello los ganglios deben ser cortados en lonchas finas. Y todas las lonchas deben ser estudiadas con al menos un corte de H-E.

Informe de la afectación ganglionar

El informe debe incluir:

- Número total de ganglios estudiados, se contabilizan los ganglios centinelas, axilares no centinelas, y los intramamarios. Si la suma de los centinelas y no centinelas es menor de 6 se utiliza el modificador "sn".
- Tamaño de las metástasis:
 - **Grupo celular aislado:** menor de 0,2mm o menos de 200 células. Se considera pN0. Si se utilizan técnicas complementarias (HE o IHQ) para su detección se añade pN0 (i+). No se cuentan para el número total de ganglios afectados por tumor.
 - **Micrometástasis:** miden entre 0,2 y 2 mm, o más 200 células. Si todos los ganglios presentan micrometástasis se añadirá el sufijo "mi"(pN1mi)
 - **Macrometástasis:** miden más de 2mm(pN1)

Como medir las metástasis:

- Si hay varias en un ganglio medir solo la de mayor tamaño.
- Si la ocupación del ganglio es en forma de células aisladas (carcinoma lobulillar) hasta 200 células será grupo celular aislado, y más será micrometástasis.
- La extensión extracapsular se incluye en la medida del tamaño de la metástasis.
- Los depósitos de tumor en la grasa periganglionar se contabilizan como ganglios, siempre que no se acompañe de parénquima no tumoral o carcinoma in situ (porque entonces se considera tejido mamario ectópico infiltrado)

BIBLIOGRAFIA

1. Varma S1, Ozerdem U, Hoda SA Complexities and challenges in the pathologic assessment of size (T) of invasive breast carcinoma. *Adv Anat Pathol*. 2014 Nov; 21(6):420-32.
2. Lakhani, S.R., Ellis. I.O., Schnitt, S.J., Tan, P.H., van de Vijver, M.J.WHO Classification of Tumours, Volume 4 IARC WHO Classification of Tumours, No 4
3. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. Fourth Edition Supplement. Editor C.A. Wells. Further information on the European Union Public Health Programme is available at: http://ec.europa.eu/health/index_en.htm ISBN 978-92-79-32970-8. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Union, 2013
4. Ellis IO1, Humphreys S, Michell M, Pinder SE, Wells CA, Zakhour HD; UK National Coordinating Committee for Breast Screening Pathology; European Commission Working Group on Breast Screening Pathology. Best Practice No 179. Guidelines for breast needle core biopsy handling and reporting in breast screening assessment. *J Clin Pathol*. 2004 Sep;57(9):897-902.
5. Pathology reporting of breast disease A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology. NHSBSP Publication No 58 January 2005.
6. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis Fourth Edition. Further information on the Health & Consumer Protection Directorate-General is available at http://europa.eu.int/comm/dgs/health_consumer/index_en.htm
7. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Invasive Carcinoma of the Breast. Protocol applies to all invasive carcinomas of the breast, including ductal carcinoma in situ (DCIS) with microinvasion. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. Protocol web posting date: December 2013.
8. Ogston KN, Miller I, Payne S, Hutcheon WA, Sarkar TK, Heys DS (2001). A novel grading system to assess pathological response and predict survival in patients receiving primary chemotherapy for breast cancer. *Eur. J. Cancer*, 37:27.
9. Pinder SE, Provenzano E, Earl H, Ellis IO (2007). Laboratory handling and histology reporting of breast specimens from patients who have received neoadjuvant chemotherapy. *Histopathology*, 50:409–417.
10. M S. Moran, J. Schnitt, A E. Giuliano, JR. Harris, SA. Khan, J Horton, S Klimberg, MChavez-MacGregor, G Freedman, N Houssami, P L. Johnson , M Morrow. Society of Surgical Oncology–American Society for Radiation Oncology Consensus Guideline on Margins for Breast-Conserving Surgery With Whole-Breast Irradiation in Stages I and II Invasive Breast Cancer .*JCO* February 10, 2014 JCO.2013.53.3935.
11. Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G., Greene, F.L., Trotti, A The AJCC Cancer Staging Manual and Handbook,. (Eds.) 7th ed. 2010

Estudio del Ganglio Centinela en cáncer de mama. Implicaciones pronósticas y terapéuticas

Laia Bernet.

Hospital Lluís Alcanyís. Xàtiva

I. INTRODUCCIÓN

El estado de la linfadenectomía axilar(LA) sigue siendo el factor pronóstico más importante en cáncer de mama y la biopsia selectiva del ganglio centinela (BSGC), el método de elección para evaluarla en pacientes de cáncer de mama sin evidencia clínica de metástasis axilar.

Desde las primeras descripciones de la BSGC a principio de los 90 hasta la actualidad, se ha descrito gran número de protocolos para el estudio del ganglio centinela (GC), tanto basados en la citología como en el estudio histológico o molecular¹⁻⁴. Aunque hay acuerdo en que el número de metástasis diagnosticadas aumenta con la exhaustividad del método, la falta de homogeneidad en los distintos protocolos citológicos e histológicos ha dificultado la obtención de datos pronósticos concluyentes. En la última década, el desarrollo de nuevas técnicas moleculares ha permitido no sólo alcanzar la imprescindible estandarización diagnóstica sino también mejorar la individualización terapéutica de la axila, tanto en el ámbito quirúrgico como en el de la radioterapia.

La tendencia cada vez más conservadora en el tratamiento del cáncer de mama ha cuestionado, especialmente a partir del ensayo Z0011⁵, la necesidad de la BSGC. Sin embargo, el diagnóstico del GC sigue siendo el pilar fundamental para la individualización terapéutica de la axila en cáncer de mama⁶.

II. ESTUDIO CITOLÓGICO

Procedimiento

El procedimiento estándar intraoperatorio consiste en la bi-disección del GC por su eje mayor. De cada superficie de corte, se realiza una impronta que se seca al aire y se tiñe con una solución de Diff-Quik (Baxter Diagnostics, McGaw Park, IL) para examen microscópico inmediato.

Las categorías diagnósticas más comúnmente usadas son: "negativo, sospechoso, atípico o positivo para metástasis". Un diagnóstico "positivo para metástasis" implica la linfadenectomía axilar. El tiempo medio hasta la emisión del informe oscila entre 10 y 20 minutos. En todos los casos, el ganglio restante debe ser evaluado en secciones histológicas, en un segundo tiempo, para diagnóstico definitivo.

Sensibilidad y Especificidad

La sensibilidad del procedimiento es bastante baja y varía en función de la experiencia del patólogo, del tipo histológico de tumor y del diámetro de la metástasis, siendo mayor para las macrometástasis que para las micrometástasis y para el carcinoma ductal que para el carcinoma lobulillar⁷.

Indicaciones

A pesar de que la citología por impronta no suele ser el método recomendado por su baja sensibilidad, puede ser una opción diagnóstica, especialmente en los siguientes contextos:

1. Para tener datos morfológicos cuando se aplica el protocolo molecular One Step Nucleic Acid Amplification (OSNA)
2. Para la confirmación diagnóstica de metástasis cuando son evidentes macroscópicamente, especialmente si el número de muestras excede la capacidad técnica del equipo de diagnóstico molecular RD-100i para diagnóstico intraoperatorio
3. Si no es posible realizar otro tipo de estudio (molecular ni histológico).

III. ESTUDIO HISTOLÓGICO

El sistema de estadificación TNM-6^a ed⁸, basándose en el diámetro tumoral como factor pronóstico, medido en mm sobre la sección de Hematoxilina-Eosina (HE), clasificó las metástasis en tres tipos distintos:

- <0,2mm (células tumorales aisladas, CTA),
- >0,2 ≤ 2mm (micrometástasis)
- >2mm (macrometástasis).

Estos límites fueron hasta cierto punto arbitrariamente establecidos, su reproducibilidad es escasa, especialmente para las metástasis de menos de 1mm y su valor predictivo para metástasis en otros ganglios no-centinela no ha sido bien definido. Dado que tanto los precedentes históricos como los estudios de seguimiento indican que son las metástasis >2mm las que tienen mayor impacto pronóstico, la mayoría de protocolos histopatológicos fueron dirigidos a asegurar el diagnóstico de, por lo menos, las macrometástasis¹⁻³.

Procedimiento

Debe inspeccionarse macroscópicamente el ganglio y la grasa que eventualmente le rodea. Si existe evidencia macroscópica de tumor, pueden ser suficientes una o varias secciones para su diagnóstico y el de su posible extensión a la grasa peri-ganglionar. Datos anatómicos apoyan que la sección del ganglio por el eje mayor evidencia mayor número de aferentes linfáticos al seno sub-capsular, por lo que, en ausencia de tumor macroscópico, debe seccionarse el ganglio siguiendo la dirección de su eje mayor en secciones que, en ningún caso, deben ser > 2mm a fin de no obviar el diagnóstico de las macrometástasis.

La inclusión de las secciones obtenidas debe permitir el estudio de la máxima extensión posible de las superficies de corte ganglionar. El objetivo debe ser evitar que queden secciones de más de 2mm sin estudiar, aunque, en la práctica diaria, es difícil de conseguir^{4,5}.

Sensibilidad y Especificidad

Aunque la especificidad del estudio histológico oscila alrededor del 99%, la sensibilidad oscila entre el 40 y el 80%, especialmente para las metástasis <2mm que pueden ser difíciles de diagnosticar en cortes intraoperatorios, generalmente de peor calidad que los de parafina y, especialmente, en carcinomas lobulillares¹¹. Como ayuda al diagnóstico y con el fin de aumentar su sensibilidad, se propuso completar el estudio histopatológico del GC con técnicas inmunohistoquímicas (IHQ) para citoqueratina u otros marcadores epiteliales¹². Sin embargo, el gran número de cortes requeridos así como la dudosa coste-efectividad de las técnicas IHQ intraoperatorias han limitado su uso y aplicación.

Como limitaciones importantes del estudio histológico, cabe destacar la falta de reproducibilidad debida al gran número de esquemas de trabajo descritos y a la subjetividad inherente al sistema de medida. Otra limitación consiste en que sólo es posible la evaluación de la medida de la metástasis en dos planos sobre el corte histológico, no pudiéndose obtener, por las limitaciones inherentes al método, la evaluación precisa del volumen tumoral total.

Indicaciones

En ausencia de OSNA, el estudio de secciones seriadas de 2mm (HE) para estudio histológico es el método de elección para el diagnóstico del GC. Es aceptable recurrir también al estudio histológico en caso de que, aún disponiendo de OSNA, el número de GC recibidos o el peso de los mismos exceda, por las posibilidades del equipo, el tiempo recomendado para diagnóstico intraoperatorio.

IV. ESTUDIO MOLECULAR

El método recomendado tanto en guías nacionales como internacionales para el estudio intraoperatorio del GC es el método molecular OSNA™ (One Step Nucleic Acid Amplification™) (Sysmex)¹³⁻¹⁵.

Bases técnicas

OSNA es una técnica desarrollada en Japón en el año 2000 cuyo fundamento consiste en una PCR mediada por bucles (LAMP) diseñada para la amplificación del ARNm de la Citoqueratina 19 (ARNm-CK19). El ARNm-CK19 fue seleccionado como marcador de elección después de haber sido comparado con otros 45 marcadores por ser el que mostró mejor capacidad de discriminar entre ganglio metastásico y no metastásico¹⁶.

La cuantificación del número de copias de ARNm-CK19 se basa en la medida de la turbidez generada por el pirofosfato de magnesio liberado en la reacción de amplificación, de escasa solubilidad en medio acuoso y que precipita cuando su concentración alcanza la saturación¹⁸. La turbidez de la reacción, medida cada 6s, permite monitorizar la amplificación de ARNm-CK19¹⁸. El rise-time es el tiempo que tarda en producirse un valor de turbidez de 0,1 en la muestra y se correlaciona con la cantidad de ARNm-CK19 que, a su vez, se correlaciona con el número de células tumorales y, por tanto, con el volumen de la metástasis.

La correlación entre el número de copias de ARNm-CK19 y el tamaño de la metástasis (criterios Sistema de EstadificaciónTNM-6ªed⁸) se determinó por análisis estadístico de la distribución logarítmica normal del número de copias obtenido del estudio OSNA de 106 ganglios linfáticos, 42 de los cuales histológicamente negativos de pacientes pN0, 42 histológicamente negativos de pacientes pN1-3 y 22 ganglios histológicamente positivos¹⁹. El punto de corte más bajo (L) se obtuvo por medio del análisis estadístico de los resultados OSNA de los ganglios histológicamente negativos de pacientes pN0. El equipo permite visualizar simultáneamente las curvas de amplificación en tiempo real de cada una de las muestras analizadas y expresa el número de copias de ARNm-CK19 tanto en números logarítmicos como de forma semi-cuantitativa (L+, +, +++, correspondientes a CTAs, micro y macrometástasis respectivamente).

De este modo:

- **La macrometástasis (H)** se define por el número de copias de ARNm-CK19 contenidas en un bloque de tejido tumoral de 2µl, correspondiente a **más de 5.000 copias** y se expresan como (++)
- **Micrometástasis:** valores comprendidos entre L y H, es decir, **entre 250 y 5.000 copias/µl**, y se expresan como (+).
- **Negativos :** Se consideran los valores inferiores a L, es decir, **< 250 copias**,
- **Células Tumorales aisladas (CTA)** se consideran aquellos casos identificados como negativos por el sistema **pero con un número de copias entre 100 y 250** copias aparecen, referidos en el equipo de amplificación como (-) L,

En conjunto, las principales ventajas de la RT-LAMP, frente a otros tipos de PCR, son:

- Alta eficiencia bajo condiciones isotermas sin **evidencia de co-amplificados distintos al ADN diana**
- Alta especificidad para las secuencias diana. Ello evita en gran parte los problemas de back-ground, frecuentes en cualquier reacción de amplificación de ácidos nucleicos.
- Procedimiento simple y sencillo de utilizar en cualquier laboratorio si se dispone del kit de amplificación adecuado
- Combinada con reacciones de transcripción reversa, LAMP identifica cualquier secuencia de ARNm de manera altamente eficiente.

Aplicación clínica

OSNA es un procedimiento estandarizado con alta sensibilidad (82,7-98,2%) y especificidad (94,8-97,7%) que elimina la variabilidad entre observadores y permite el diagnóstico intraoperatorio del GC en su totalidad, evitando la necesidad de linfadenectomías diferidas en un segundo tiempo^{4,20}.

OSNA puede aplicarse igualmente al estudio diferido de la linfadenectomía axilar. Bernet et al. compararon el diagnóstico histológico vs OSNA de 567 ganglios procedentes de linfadenectomía axilar observando que el 47% de las pacientes clasificadas como pN0 en el estudio histológico fueron metastásicas por OSNA. El 88,6% de los ganglios metastásicos OSNA no fueron detectados en el estudio convencional y, de ellos, el 35,8% fue macrometastásico²⁰.

Recientemente, se ha introducido el concepto de “Carga Tumoral Total” (CTT), aplicable al estudio molecular del GC, definido como la suma del número de copias de ARNm-CK19 de cada uno de los GC. Algunos autores, basándose en el estudio molecular del GC, relacionan la “Carga Tumoral Total” (CTT) con el número de ganglios metastásicos de la linfadenectomía axilar y concluyen que la CTT es el mejor predictor independiente de metástasis en los ganglios no-centinela de la LA^{21,22}. La variable CTT constituye una herramienta de gran impacto clínico al facilitar la toma de decisiones terapéuticas sobre la axila durante el acto quirúrgico y permite definir distintos puntos de corte, en función de la sensibilidad y especificidad deseadas, tanto para la afectación (metástasis sí/no) de ganglios no-centinela como para la predicción del número de ganglios axilares no-centinela metastatizados. La CTT, además, mejora el valor predictivo positivo de los nomogramas clínicos conocidos²¹⁻²³. Peg et al recomiendan un punto de corte de 15.000 copias para la indicación de la linfadenectomía axilar²².

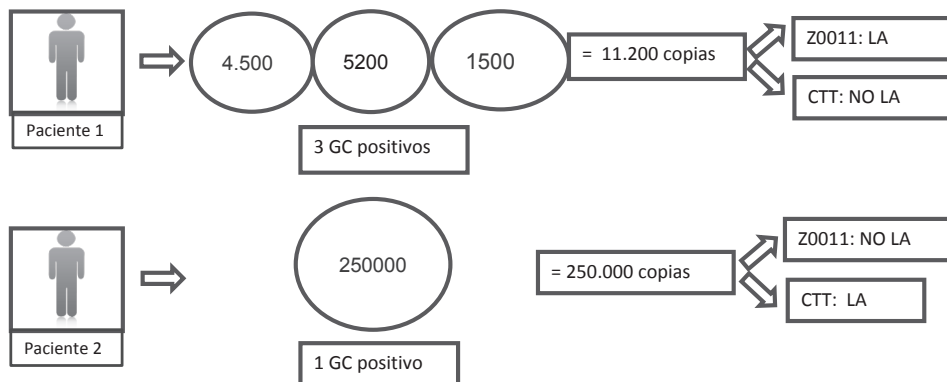


Fig1. Criterios para linfadenectomía axilar (LA), ensayo Z0011 vs carga tumoral total (CTT)

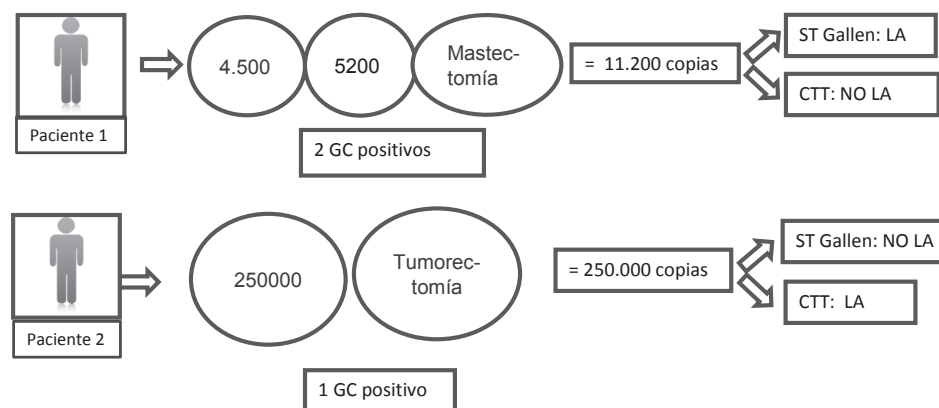


Fig 2. Criterios para LA, ST Gallen vs CTT

Desde el punto de vista quirúrgico, la aplicación diagnóstica de la CTT conlleva importantes cambios en la decisión terapéutica sobre la axila, tanto en relación a los criterios de St. Gallen como los del ensayo Z0011⁵ (Fig 1 y 2)

Desde el punto de vista del oncólogo radioterápico, la CTT, por su valor predictivo del número de ganglios axilares no-centinela metastásicos, constituye, en ausencia del estudio patológico de la linfadenectomía completa, el mejor criterio para individualizar el tratamiento radioterápico, al depender éste del número de ganglios afectados²³. En este contexto, la CTT constituye la única variable capaz de dar información acerca del estado de los ganglios axilares no-centinela. El ensayo OPTIMAL, promovido por el grupo GICOR y actualmente en curso, tiene como objetivo primario demostrar la no inferioridad de la irradiación incidental de los nódulos axilares, comparada con la intencional, en términos de supervivencia libre de enfermedad a 5 años (SLE) de pacientes con cáncer de mama temprano con afectación limitada del ganglio centinela, evaluada con OSNA (250 a 15.000 copias/uL), tratada con cirugía conservadora de la mama sin linfadenectomía axilar.

Algunos autores han especulado con la posibilidad de que los carcinomas de mama CK19 negativos pudieran ser causa de falsos negativos en el protocolo OSNA²⁴⁻²⁶. Aunque publicaciones recientes parecen indicar que, a pesar de la pérdida en la expresión de la proteína, se conserva la expresión de ARNm-CK19^{25,26}, el documento de Consenso 2013 para GC recomienda la evaluación inmunohistoquímica de la proteína en la biopsia de aguja gruesa (BAG) y excluir del protocolo OSNA los tumores con expresión de CK19 en menos del 30% de las células tumorales¹³.

Las inclusiones epiteliales benignas o el desplazamiento de células al GC desde el tumor primario, especialmente en los carcinomas papilares, pueden ser casusas de falsos positivos OSNA, aunque su escasa incidencia no constituye un problema real en la práctica clínica^{20,27}.

OSNA presenta, frente al estudio histológico, las siguientes ventajas:

1. Permite el estudio del GC en su totalidad sin pérdida de tejido y en tiempo asumible intra-operatoriamente
2. Cuantificación precisa y reproducible del volumen de la metástasis
3. Estandarización

Dado que el sistema de clasificación del TNM⁸ se basa exclusivamente en criterios histológicos, no aplicables al estudio molecular, el grupo de expertos para GC recomienda la siguiente nomenclatura para el diagnóstico de metástasis, protocolo OSNA¹³:

- Macrometástasis: pN1_(OSNA).
- Micrometástasis: pN1mic_(OSNA).
- Células tumorales aisladas: pN0 (mol+_{OSNA}).

BIBLIOGRAFÍA

1. Weaver DL. Pathology evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer: protocol recommendations and rationale. *Mod Pathol* 2010; 23: S26-S32
2. Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield MK et al. American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23:7703-20
3. Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N et al. Pathological work-up of sentinel lymph nodes in breast cancer. Review of current data to be considered for the formulation of guidelines. *Eur J Cancer* 2003;39: 1654-67.
4. Bernet L, Martínez Benaclocha M, Cano Muñoz R et al. Molecular Diagnosis of Sentinel Lymph Nodes for Breast Cancer: One Step Ahead for Standardization. *Diagn Mol Pathol* 2011;20:18-21
5. Giuliano AE, McCall L, Beitsch P et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. *Ann Surg.* 2010;252: 426-32.

6. Donker M, van Tienhoven G, Straver ME et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):1303-10
7. Cox C, Centeno B, Dickson D et al. Accuracy of Intraoperative Imprint Cytology for Sentinel Lymph Node Evaluation in the Treatment of Breast Carcinoma. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2005;105:13-20
8. TNM Classification of Malignant Tumors, 6th ed. In: Sobin LH, Wittekind C, eds. New York: Wiley-Liss; 2002
9. Weaver DL, Le UP, Dupuis SL et al. Metastasis detection in sentinel lymph nodes: Comparison of a limited widely spaced (NSABP protocol B-32) and a comprehensive narrowly spaced paraffin block sectioning strategy. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:1583-1589
10. ADASP Recommendations for Processing and Reporting of Lymph Node Specimens Submitted for Evaluation of Metastatic Disease. *Mod Pathol.* 2001 Jun;14(6):629-32
11. Cipolla C, Cabibi D, Fricano S et al. The value of intraoperative frozen section examination of sentinel lymph nodes in surgical management of breast carcinoma. *Langenbecks Arch Surg.* 2010;395(6):685-9
12. Wong SL, Chao C, Edwards MJ et al. The use of cytokeratin staining in sentinel lymph node biopsy for breast cancer *Am J Surg* 2001;182 (4):330-4.
13. Bernet L, Piñero A, Vidal-Sicart S et al. Consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Revisión 2013 de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. *Rev Esp Patol.* 2014;47:22-32
14. National Institute for Health and Care Excellence. Diagnostics consultation document. Intraoperative tests (RD-100i OSNA system and Metasin test) for detecting sentinel lymph node metastases in breast cancer. London: NICE; 2013. Disponible en <http://guidance.nice.org.uk/DT/InDevelopment>
15. The Japanese Breast Cancer Society. Clinical practice guideline of breast cancer. Is the sentinel lymph node analysis recomendable? *CQID.* 2013;1:601401.
16. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H et al. Loop mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28:E63.
17. Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol Cell Probes* 2002;16:223-9.
18. Mori Y, Nagamine K, Tomita N et al. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;289:150-4.
19. Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K et al. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2007;13:4807-16.
20. Bernet L, Cano R, Martinez M, et al. Diagnosis of the sentinel lymph node in breast cancer: a reproducible molecular method: a multicentric spanish study. *Histopathology* 2011;58:863-9.

21. Ohi Y, Umekita Y, Sagara Y et al. Whole sentinel lymph node analysis by a molecular assay predicts axillary node status in breast cancer. *Br J Cancer*. 2012;107:1239-43.
22. Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B et al. Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: a new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2013;139:87-93.
23. Piñero-Madróna A, Ruiz-Merineo G, Bernet L et al. Tumoral load quantification of positive sentinel lymph nodes in breast cancer to predict more than two involved nodes. "THE BREAST-D-14-208R1" In press.
24. Vilardell F, Matias-Guiu X. CK19 expression should be tested prior to OSNA analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer. *Virchows Arch*. 2013;462:121.
25. Alvarenga CA, Paravidino PI, Alvarenga M et al. Expression of CK19 in invasive breast carcinomas of special histological types: implications for the use of one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol*. 2011;64:493-7.
26. Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T et al. Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients. Results of a multicenter trial using the one-step-nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res*. 2009;15:2879-84
27. Maiorano E, Mazzarol GM, Pruneri G et al. Ectopic breast tissue as a possible cause of false-positive axillary sentinel lymph node biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:513-8

Estudios y recomendaciones de biomarcadores en cáncer de mama

Ángel Panizo ⁽¹⁾, Jesús Javier Sola ⁽²⁾

(1) Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

(2) Hospital San Pedro, Logroño

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea y compleja, caracterizada por la diversidad molecular y genética, que ha dado como resultado el reconocimiento de varios subtipos moleculares diferentes de tumores. El cáncer de mama se puede dividir en 4 subtipos intrínsecos: luminal A, luminal B, HER2 enriquecido, y de tipo basal. Los perfiles de expresión génica para clasificar el cáncer de mama son de utilidad muy limitada en la práctica clínica diaria, en parte debido a los costes y al consumo de mucho tiempo. Por eso, se ha propuesto el uso de paneles de inmunohistoquímica para la clasificación de los tumores de mama en distintos subtipos identificados por los estudios de perfiles de expresión génica. Estos paneles utilizan principalmente anticuerpos contra los receptores de estrógenos (RE), receptores de progesterona (RP), receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) y Ki-67.

I. GENERALIDADES

Se recomienda que el estudio de los receptores hormonales, HER2 y Ki-67 se haga en todos los carcinomas de mama primarios y en recidivas o tumores metastásicos. Si los receptores hormonales y HER2 son negativos en la biopsia de aguja gruesa, se debe considerar repetir la prueba en una muestra subsiguiente, sobre todo cuando los resultados son discordantes con los hallazgos histopatológicos. Cuando hay varios focos de carcinoma infiltrante, se debe realizar el estudio de biomarcadores en el de mayor tamaño, así como en los focos más pequeños si son de diferente tipo histológico o grado superior.

En cada prueba, se deben tener en cuenta las variables preanalíticas y analíticas específicas que puedan afectar a los resultados. Tales variables incluyen:

- *Tiempo de isquemia fría* (tiempo entre la extracción de tejido y el inicio de la fijación) y el tiempo de fijación: el tejido debe fijarse en formol tan pronto como sea posible una vez tomada la muestra. La fijación puede mejorarse mediante la colocación en fijador de una loncha delgada del tumor separada de la muestra principal.
- *Tipo de fijador*: la muestra debe fijarse en formol neutro tamponado al 10% durante 24 horas. La fijación durante 24 horas logra resultados óptimos para muestras pequeñas (biopsias de aguja) y muestras más grandes (piezas quirúrgicas). Tiempos de fijación cortos (por ejemplo <6-8 horas) pueden poner en peligro los resultados del estudio de receptores hormonales. La IHQ de receptores hormonales puede verse comprometida por la fijación en formol caliente o fijadores distintos a formalina tamponada al

10%. La inmunorreactividad también puede verse afectada por fijación prolongada con formol (posiblemente sólo con tiempos de fijación extremos).

- *Tratamiento del tejido que pueda alterar potencialmente la inmunorreactividad* (por ejemplo, descalcificación).

II. CONTROLES IHQ

Deben incluirse controles externos e internos positivos y negativos. Se recomienda la selección de controles positivos con ambos niveles bajos y altos, con el fin de evitar resultados falsos negativos.

- *Control Interno*: al seleccionar el bloque a estudiar se recomienda incluir uno que contenga tejido mamario no neoplásico adyacente al tumor, para proporcionar un control positivo interno que ha sufrido fijación similar al carcinoma.
- *Idoneidad de la muestra para la evaluación*: el análisis de receptores hormonales se puede realizar en material de biopsia incluido en parafina (incluyendo biopsias de aguja y tejidos extirpados), material citológico o bloques celulares. La evidencia actual publicada es inconsistente en cuanto a qué tipo de muestra obtiene los resultados más precisos en el análisis de receptores hormonales. Algunos estudios favorecen las biopsias de escisión, mientras que otros sugieren que las biopsias con aguja podrían proporcionar estimaciones más fiables en los receptores hormonales que la escisión biopsia o la mastectomía. El manejo óptimo de la muestra es probablemente el factor clave para garantizar estudios de IHQ precisos, independientemente del tipo de espécimen.
- *Clon de anticuerpo primario y métodos de recuperación antigénica*.
- *Garantía de calidad*: Hay muchas variables técnicas que pueden afectar a los resultados del estudio IHQ y por tanto, los estudios de IHQ deberán ser validados para asegurar su exactitud. Los controles de calidad externos son herramientas muy valiosas para ayudar a asegurar que los ensayos se realizan como se esperaba y los resultados de la técnica son por tanto comparables con otros laboratorios. Estos programas o controles de calidad de la técnica de IHQ están disponibles tanto en la SEAP, como en otras organizaciones.

III. ANÁLISIS DE RECEPTORES HORMONALES (RE y RP)

Las células epiteliales de la mama tienen RE y RP y proliferan bajo su influencia. La mayoría de los carcinomas de mama también expresan estos receptores y pueden ser estimulados para crecer por estas hormonas. La eliminación endógena de hormonas por ooforectomía o bloqueo farmacéutico (por ejemplo, con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa) puede retrasar o prevenir el crecimiento tumoral y prolongar la supervivencia.

El estado de los receptores hormonales se determina principalmente para identificar pacientes que pueden beneficiarse de terapia hormonal. Alrededor del 75% al 80% de los cánceres de mama invasivos son positivos para RE y RP. Los estudios han demostrado un beneficio de supervivencia sustancial en los pacientes con tumores RE positivos tratados con terapia hormonal.

El estado de los receptores hormonales se determina con mayor frecuencia en secciones de tejido fijado en formol e incluido en parafina, mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ). Sólo la tinción nuclear se considera positiva. La tinción citoplasmática no se correlaciona con la respuesta tumoral a la terapia endocrina.

Los estudios de IHQ sugieren que los pacientes con niveles de receptores de hormonales superiores tienen una mayor probabilidad de respuesta a la terapia hormonal, pero la expresión tan baja como del 1% de tinción nuclear positiva se ha asociado con respuesta clínica. Por tanto, las guías recomiendan clasificar todos los casos con al menos 1% de células positivas con independencia de la intensidad de la tinción, como tumor receptor positivo. Este punto de corte representa un enfoque pragmático, en ausencia de consenso.

El Instituto Nacional de Salud (NIH) americano recomienda que el patólogo informe del porcentaje de células positivas y la intensidad de la tinción. En los pacientes con baja expresión de receptores hormonales

(1% a 10% de células débilmente positivas), la decisión sobre la terapia endocrina se debe basar en un análisis de sus riesgos y beneficios potenciales por parte del clínico.

Si sólo hay un pequeño número de células con tinción positiva débil, el ensayo debe repetirse. Ante la repetición de la prueba, el patólogo debe prestar mucha atención a la optimización de la recuperación antigénica, utilizar diferentes bloques, o utilizar una muestra diferente del mismo paciente (por ejemplo, la biopsia de aguja).

Cuantificación de RE y RP

Tanto ASCO como CAP han emitido recomendaciones para informar los resultados de IHQ para RE, RP. La práctica común en los laboratorios de patología es valorar la tinción de RE, RP, y Ki-67 visualmente (también llamado manualmente) mediante microscopía de luz con un aumento media (objetivos 10x o 20x).

Se debe estimar el porcentaje de núcleos teñidos (positivos). El número de células positivas se puede expresar como un porcentaje absoluto o dentro de un rango de categorías discretas.

La intensidad se refiere al grado de positividad nuclear de la tinción predominante. Se debe valorar como baja (1+), intermedia (2+) o alta (3+). La intensidad de la tinción se afecta por la cantidad de proteína presente, así como por el anticuerpo utilizado y por el sistema de recuperación antigénico empleado. En la mayoría de los carcinomas existe inmunorreactividad de intensidad heterogénea.

Hay dos métodos de cuantificación de RE y RP usando la combinación de la intensidad y el porcentaje de células positivas: score Allred y el score H. Los 2 sistemas clasifican los carcinomas en grupos, de forma similar, pero no idéntica. Si los anticuerpos se utilizan con sistemas de detección sensible o de amplificación de señal, la mayoría de los carcinomas caerán en grupo claramente positivo (puntuación 7 u 8) o claramente negativo (puntuación 0) según el score Allred. Un pequeño grupo de carcinomas (<1% del total) mostrará niveles intermedios de inmunorreactividad.

Las directrices ASCO/CAP recomiendan que los carcinomas con <1% de células positivas se informen como negativos para RE o RP. En el score Allred la supervivencia de los pacientes cuyos carcinomas han tenido una puntuación de 2 (correspondiente a <1% células débilmente positivas) es similar a la de los pacientes cuyos carcinomas son completamente negativos para RE. Por lo tanto, una puntuación de 2 se considera un resultado negativo. Los carcinomas con <1% de células positivas e intensidad de 2+ o 3+ tendrían una puntuación total de 3 o 4, y por tanto se consideran positivos.

Sea cual sea el método de valoración que se utilice, es bien sabido que la evaluación manual microscópica de RE y RP es subjetiva, tediosa, requiere mucho tiempo y por tanto puede conducir a variabilidad significativa entre observadores. Para superar estos problemas, se han descrito varios métodos de análisis de imagen digital. El análisis de imagen asistida por ordenador puede mejorar la precisión y reproducibilidad interobservador de las valoraciones de IHQ. Para llegar a ser ampliamente aceptado y utilizado por los patólogos, un sistema de análisis digital de imágenes debe ser de fácil acceso, no requerir un equipo dedicado o instalación de software, y ser compatible con las configuraciones de microscopio existentes. Para su uso rutinario, un sistema de análisis de imagen debe aceptar variación en la intensidad de la tinción, en la configuración de microscopio, y en los entornos de adquisición de imágenes

IV. ESTUDIO DE Ki-67

Ki-67 es una proteína nuclear que se encuentra en todas las fases del ciclo celular y por tanto, un marcador de proliferación celular. El gen que codifica la proteína Ki67 (MKI67), está localizado en el cromosoma 10q26, y comprende 15 exones con un gran exón 13, que incluye 16 secuencias homólogas que contienen un elemento de 22 aminoácidos altamente conservado llamado el "Ki67 motif". Los anticuerpos monoclonales usados más comúnmente son MIB1 y SP6.

La tinción IHQ para Ki67 es una técnica que está sujeta a un gran número de variables. De forma similar a RE, RP y HER2, la tinción de Ki67 requiere la optimización y la normalización de las condiciones técnicas. Una ventaja de IHQ para Ki67 es que es mucho más tolerante con las variables preanalíticas, que comúnmente

afectan a HER2, RE y RP. En particular, la fijación, que es con frecuencia un problema en otros ensayos de cáncer de mama y que puede incluso afectar recuento mitótico, es menos problemático para Ki67.

En la evaluación de la tinción es importante reconocer que la variación en la expresión de Ki67 se produce en todo el ciclo celular, que va desde tinción nuclear débil y en gránulos perinucleolares en fase G1, a tinción nucleolar y perinucleolar en G2 y tinción intensa cuando la membrana nuclear desaparece durante la mitosis. En consecuencia, a la hora de valorar la positividad de Ki67 se debe incluir todos los tipos de tinción nuclear, ya sea granular o difusa, y con independencia de la intensidad de la tinción. Las figuras mitóticas sirven como un buen control interno positivo para Ki67.

El porcentaje de células tumorales positivas para Ki-67 se utiliza a menudo para estratificar a los pacientes en grupos pronósticos. El cáncer de mama de tipo luminal que es RE+ se divide en tipos luminal A y luminal B, dependiendo de los valores del receptor de progesterona y del índice Ki-67. Hay una serie de características moleculares que tienden a ser diferentes entre el tipo luminal A y el tipo luminal B, pero la característica más obvia es una mayor tasa de proliferación en el segundo.

Sigue habiendo una falta de consenso sobre la metodología de cuantificación, la definición de baja versus alta expresión, un punto de corte adecuado para la positividad, o qué parte del tumor debe evaluarse (por ejemplo, borde de infiltración, "hot spots", promedio general, etc.).

Se ha empleado diferentes enfoques para la cuantificación de Ki67. Estos incluyen métodos de análisis de imágenes, que tienen la ventaja de la velocidad y la objetividad, pero puede subestimar el número de células no teñidas y pueden ser afectados también por la tinción de fondo, así como por la positividad en el infiltrado linfóide o en el estroma. Los métodos de valoración visual dan simplemente una estimación de la proporción de células teñidas. Un enfoque más robusto es llevar a cabo un recuento formal de células tumorales teñidas y no teñidas: idealmente se deben contar 1000 células (un mínimo de 500 células).

El mayor problema para una valoración fiable de Ki67 es la selección de los campos a estudiar, a causa de la variación causada por la heterogeneidad intratumoral. Un método consiste en seleccionar los 'puntos calientes' (hot-spots), que es análogo al enfoque adoptado en la clasificación de Bloom-Richardson, donde se analiza la zona más mitóticamente activa en la periferia del tumor, a la hora de evaluar la puntuación mitótica. Un enfoque alternativo pretende obtener una puntuación media representativa de todo el tumor mediante la selección de campos con una gama de patrones de tinción. Al emplear la puntuación media, se considera que ese valor refleja la naturaleza global de todo el tumor. Sin embargo, el uso de los puntos calientes ("hot spots"), parece que refleja mejor la porción más activa del tumor (clones tumorales que marcan el potencial biológico del tumor).

En vista de las diversas metodologías empleadas en la evaluación de Ki67 y la falta de consenso en cuanto a la cuantificación, puede ser prudente establecer un protocolo de informe de Ki67 en cada institución y luego revisar los datos locales para comprender el rango de valores visto a través de los grados y en las condiciones específicas.

V. HER2

Un subgrupo de los carcinomas de mama (aproximadamente 15% a 20%) sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2). La sobreexpresión de la proteína es generalmente debido a la amplificación del gen. La amplificación del gen se correlaciona con la sobreexpresión de la proteína en aproximadamente el 95% de los casos. En un pequeño subconjunto de carcinomas (probablemente <5%), la sobreexpresión de la proteína se puede producir por diferentes mecanismos a la amplificación. La sobreexpresión es a la vez un factor pronóstico y predictivo. El estado de HER2 se evalúa principalmente para determinar que pacientes se pueden beneficiar de la terapia anti-HER2.

El estado de HER2 se puede determinar en el tejido mediante la evaluación de la expresión de la proteína en la membrana de las células tumorales utilizando IHQ o mediante la evaluación del número de copias del gen HER2 utilizando hibridación in situ (ISH). Se debe tener en cuenta que en un pequeño número de

casos, puede haber sobreexpresión de la proteína sin amplificación, amplificación sin sobreexpresión de la proteína, o marcada heterogeneidad intratumoral.

El estudio de HER2 debe realizarse en todos los carcinomas infiltrantes de mama, en enfermedad recidivante o en metástasis.

Pruebas de HER2 por inmunohistoquímica

Se recomienda que el tejido se fije en formol tamponado al 10% durante al menos 6 horas.

Los resultados falsos positivos para HER2 en IHQ pueden deberse a:

- *Artefacto del borde*: se ve generalmente en las biopsias de aguja, donde las células cerca de los bordes se tiñen más fuerte que en el centro de la biopsia. Las biopsias con tinción más intensa en el borde del tejido deben ser interpretadas con cautela.
- *Positividad citoplasmática*, que puede oscurecer la tinción de membrana y dificultar la interpretación.
- *Sobretinción* (fuerte tinción de la membrana de las células epiteliales normales). Puede ser debido a la inadecuada concentración del anticuerpo (concentración demasiado alta).
- *Valoración de carcinoma ductal in situ (CDIS)*: CDIS es a menudo HER2 positivo. En los casos con extenso CDIS, se debe valorar HER con cautela, evitando las áreas de CDIS y valorando sólo el componente invasivo.

Resultados de IHQ falsos negativos para HER2 pueden deberse a:

- Tiempo de isquemia fría prolongada.
- Heterogeneidad del tumor.
- Concentración inadecuada del anticuerpo (concentración demasiado baja)

Los resultados falsos negativos y falsos positivos pueden reducirse prestando atención a lo siguiente:

- *Controles de tejido*. Los controles externos deben de teñirse como se espera. No hay controles internos normales para HER2.
- *Correlación con la morfología y con otros resultados de biomarcadores*. Si la prueba HER2 por IHQ es negativa, pero el tumor tiene características asociadas con positividad de HER2, se debe considerar repetir la prueba por ISH.

ASCO y CAP han publicado recientemente recomendaciones actualizadas para informar los resultados de las pruebas de HER2 por IHC

Resultado	Criterios
Negativo (Score 0)	No se observa tinción o Tinción de membrana incompleta, débil/apenas perceptible en $\leq 10\%$ de las células tumorales
Negativo (Score 1+)	Tinción de membrana incompleta, débil/apenas perceptible en $> 10\%$ de las células tumorales*
Equívoco-dudoso (Score 2+)	Tinción de membrana incompleta y/o tinción ligera a moderada en $> 10\%$ de las células tumorales o Tinción completa intensa en $\leq 10\%$ de las células tumorales
Positivo (Score 3+)	Tinción completa intensa en $> 10\%$ de las células tumorales

Pruebas de HER2 mediante hibridación in situ

Para determinar la presencia o ausencia de amplificación del gen HER2 se puede emplear hibridación in situ con fluorescencia (FISH), cromogénica (CISH), o con la plata (SISH). Algunas pruebas utilizan una sola sonda para determinar el número de copias del gen HER2 presentes, pero la mayoría de las técnicas actual-

mente incluyen una sonda para el centrómero del cromosoma (CEP17) y otra sonda para el gen HER2 y así poder determinar la relación de las señales gen/centrómero.

Todo carcinoma de mama que muestre un resultado inicial de IHQ 2+ (equivoco-dudoso) debe ser analizado de nuevo usando ISH. Si las pruebas de ISH no demuestran amplificación del gen HER2, el resultado debe ser informado como negativo. Si la ISH demuestra la amplificación de las señales del gen HER2, el resultado debe ser considerado como positivo.

La ausencia de resultado con ISH puede ser debido a las siguientes situaciones:

- Fijación prolongada en formol (> 1 semana),
- Empleo de fijadores diferentes al formol,
- Procedimientos de fijación en los que intervenga un ácido (por ejemplo, la descalcificación) pueden degradar el ADN,
- Tratamiento insuficiente del tejido con proteasa.

Para los estudios de HER2 mediante ISH, el tejido debe estar bien fijado en formol tamponado neutro. Se debe seleccionar las áreas que están bien conservadas y sin de necrosis o artefacto quirúrgico. En las piezas quirúrgicas, lo ideal es fijar una loncha fina del tumor tan pronto como sea posible después de la cirugía. Se recomienda la fijación en un volumen adecuado de formol durante un mínimo de 6-8 horas (preferiblemente 24 horas). Los períodos de fijación más cortos dan lugar a daño o degradación del ADN y por tanto a una señal de ISH débil.

La técnica de ISH no debe llevarse a cabo de forma rutinaria en biopsias con aguja gruesa. La ISH puede realizarse sobre biopsias con aguja gruesa en circunstancias especiales (por ejemplo, cuando está prevista terapia neoadyuvante o cuando ningún otro tejido está disponible). Las áreas de CDIS no debe valorarse.

ASCO y CAP han emitido recientemente recomendaciones actualizadas para informar los resultados de las pruebas de HER2 por ISH.

Resultados de HER2 por hibridación in situ (ensayo de una sola sonda)

Resultado	Criterio
Negativo (no amplificado)	Promedio del número de copias de HER2 <4 señales por célula
Equívoco-dudoso	Promedio del número de copias de HER2 ≥ 4 y <6 señales por célula †
Positivo (amplificado)	Promedio del número de copias de HER2 ≥ 6.0 señales por célula †

† Observado en una población homogénea y contigua de $\geq 10\%$ de células tumorales

Resultados de las pruebas HER2 por hibridación in situ (ensayo de doble sonda)

Resultado	Criterio
Negativo (no amplificado)	Relación HER2/CEP17 <2 y número medio de copias HER2 <4 por célula
Equívoco-dudoso	Relación HER2/CEP17 <2 y número medio de copias HER2 ≥ 4 pero <6 por célula †
Positivo (amplificado)	Relación HER2/CEP17 ≥ 2 (independientemente del número medio de copias HER2)) o Promedio de número de copias HER2 ≥ 6 . por célula (independientemente de la relación)

Cuestiones importantes en la interpretación de ISH son las siguientes:

- *Identificación del carcinoma infiltrante:* el patólogo debe identificar en la hematoxilina y eosina (H&E) o HER2 IHC el área de carcinoma infiltrante para ser evaluado posteriormente mediante ISH.

- *Identificación de CDIS asociado*: en algunos casos, el CDIS mostrará amplificación del gen, mientras que el carcinoma invasivo asociado no lo hará. El análisis de ISH se debe realizar únicamente en el carcinoma invasivo.
- *Algunos tipos de carcinoma tienen un bajo nivel de expresión de HER2* tanto por IHC, como por los análisis de ISH. La repetición de la prueba puede ser útil para excluir posibles problemas técnicos con las técnicas, pero a menudo no dar lugar a resultados positivos o negativos definitivos.
- *Tanto el número de copias del gen HER2 o la relación de HER2 a CEP17 se pueden utilizar para determinar la presencia de amplificación*. En la mayoría de los carcinomas, ambos métodos darán el mismo resultado. En casos poco comunes, los 2 métodos dan resultados diferentes, por lo general debido a la variación en el número de señales CEP17. Algunos estudios han demostrado que anomalías en el cromosoma 17 pueden llevar a alteraciones de la relación HER2/CEP17, lo que podría dar lugar a resultados equívocos o incorrectos de la ISH. En tales casos, el número de copias del gen puede ser un reflejo más preciso del estado de HER2.
- *Si se detecta heterogeneidad para la amplificación de HER2*, debe ser informado de acuerdo con los criterios recomendados por el Colegio Americano de Patólogos. La heterogeneidad se define como > 5% pero <50% de células tumorales que muestran amplificación de HER2. El porcentaje de tumor infiltrante que muestra amplificación de HER2 debe ser informado, junto con el número de copias del gen HER2 en ambos componentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ballinger TJ, Sanders ME, Abramson VG. Current HER2 testing recommendations and clinical relevance as a predictor of response to targeted therapy. Clin Breast Cancer. 2014 In Press.
2. Barton S, Zabaglo L, A'Hern R, et al. Assessment of the contribution of the IHC4+C score to decision making in clinical practice in early breast cancer. Br J Cancer. 2012; 106(11):1760-5.
3. Cornejo KM, Kandil D, Khan A, Cosar EF. Theranostic and molecular classification of breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2014;138(1):44-56.
4. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in breast cancer working group. J Natl Cancer Inst. 2011; 103(22):1656-1664.
5. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond EH, Allred DC, Valenstein PN. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor immunohistochemistry assays. Arch Pathol Lab Med. 2010; 134(6):930-935.
6. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Arch Pathol Lab Med. 2010; 134(6):907-922.
7. Maisonneuve P, Disalvatore D, Rotmensz N, et al. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes. Breast Cancer Res. 2014; 16(3):R65.
8. Pathmanathan N, Balleine RL. Ki67 and proliferation in breast cancer. J Clin Pathol. 2013; 66(6):512-6.
9. Polley MY, Leung SC, McShane LM, et al; International Ki67 in Breast Cancer Working Group of the Breast International Group and North American Breast Cancer Group. An international Ki67 reproducibility study. J Natl Cancer Inst. 2013; 105(24):1897-906.

10. Rakha EA, Pinder SE, Bartlett JM, et al; On behalf of the National Coordinating Committee for Breast Pathology. Updated UK Recommendations for HER2 assessment in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2014 in Press.
11. Rakha EA, Starczynski J, Lee AH, Ellis IO. The updated ASCO/CAP guideline recommendations for HER2 testing in the management of invasive breast cancer: a critical review of their implications for routine practice. *Histopathology*. 2014;64(5):609-15.
12. Untch M, Gerber B, Harbeck N, et al. 13th St. Gallen international breast cancer conference 2013: primary therapy of early breast cancer evidence, controversies, consensus -opinion of a German team of experts (Zurich 2013). *Breast Care (Basel)*. 2013;8(3):221-9.
13. Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch*. 2014; 465(1):1-14.
14. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology-College of American Pathologists (ASCO/CAP) Clinical Practice Guideline Update (2013). *Arch Pathol Lab Med*. 2014; 138(2):241-56.
15. Yamamoto S, Chishima T, Mastubara Y, et al. Variability in measuring the ki-67 labeling index in patients with breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2015; 15(1):e35-9.
16. Yamamoto-Ibusuki M, Yamamoto Y, Yamamoto S, et al. Comparison of prognostic values between combined immunohistochemical score of estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2, Ki-67 and the corresponding gene expression score in breast cancer. *Mod Pathol*. 2013; 26(1):79-86.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA

Introducción

Mariona Suñol, coordinadora del club

Correspondencia: msunol@hsjdbcn.org

En los últimos años se ha podido observar la importancia de la utilización de guías de práctica clínica en el manejo de patologías complejas que sirvan como guía de recomendaciones para una buena práctica clínica. Esto es de especial relevancia en el diagnóstico y tratamiento de patologías oncológicas y en particular en la pediátrica debido a la menor incidencia de esta patología en niños respecto a la de los adultos en los diferentes hospitales del estado.

Desde el club de patología pediátrica hemos querido dedicar esta primera edición a la patología oncológica y, hemos dejado la patología no oncológica pediátrica para la próxima edición del libro blanco.

Patología Pediátrica Tumoral. Protocolo de manejo de muestras macroscópicas, microscópicas y estandarización de los informes.

INDICE

- Tumores renales infantiles
- Retinoblastoma
- Neuroblastoma
- Neoplasias de partes blandas
- Tumores óseos en edad pediátrica

Guía práctica para el manejo de piezas quirúrgicas de tumores renales infantiles

Diego Pascual-Vaca Gómez, David Marcilla Plaza, M^a José Robles Frías, Felicia Sánchez Gallego, Enrique de Álava Casado.

UGC Anatomía Patológica. HUV Rocío. Sevilla.

I. INTRODUCCIÓN.

Los tumores renales infantiles constituyen entre el 6 y 7% de todos los tumores en la infancia¹. De todos ellos, el nefroblastoma supone el 90%² presentándose fundamentalmente entre los 2 y 5 años de edad³. El resto de tumores renales infantiles constituye un pequeño grupo que incluye el sarcoma de células claras del riñón, el carcinoma de células renales, el nefroma mesoblástico congénito, tumor rabdoide del riñón y una miscelánea de tumores raros^{4,5}.

Dada su baja incidencia representan un desafío diagnóstico y terapéutico por lo que es necesario estudiarlos y tratarlos mediante grandes ensayos multicéntricos nacionales e internacionales⁶. Esto incluye desde el punto de vista anatomopatológico la conveniencia de constituir paneles nacionales de revisión centralizada.

Desde 1969, se han desarrollado varios ensayos clínicos bajo dos enfoques diagnósticos y terapéuticos distintos que definen clasificaciones histológicas diferentes.

En Estados Unidos, el National Wilms' Tumour Study Group (NWTSG, ahora parte del Children's Oncology Group COG), propone cirugía seguida de quimioterapia y radioterapia en caso de ser necesarias^{2,7}.

En contrapartida, en Europa, el diagnóstico clínico y radiológico, así como la quimioterapia preoperatoria constituyen el eje central según el protocolo de diagnóstico y tratamiento del RTSG de la SIOP (Renal Tumour Study Group de la International Society of Paediatric Oncology) seguida de la evaluación histológica de la pieza quirúrgica^{8,9}.

El patólogo tiene un papel fundamental en el diagnóstico del tumor renal, en la asignación a un subtipo histológico, grupo de riesgo y estadio local¹⁰. Dada la marcada frecuencia relativa con respecto al resto de tumores, centramos el desarrollo de esta guía esquemática en el protocolo de estudio y elementos diagnósticos de nefroblastoma, basándonos en recomendaciones SIOP.

II. PROTOCOLO DE ESTUDIO MACROSCÓPICO.

Es fundamental que el patólogo realice el manejo y manipulación de la pieza de nefrectomía, que debe recibirse de quirófano en fresco y sin haber sido manipulada, comprobando los datos de identificación y el número de frascos recibidos junto con el informe quirúrgico. También es aconsejable consultar las pruebas

de imagen realizadas para conocer de antemano la localización y extensión del tumor. A continuación debe respetarse el siguiente orden:

1. **Pesar, medir y fotografiar** la pieza completa **por ambas caras**.
2. Buscar cuidadosamente posibles áreas de rotura y, a ser posible, teñirlas con un color diferente al resto de la pieza. Señalar en la foto esta área y anotarla en el informe de petición para indicarlo en el dictado. La decapsulación no debe realizarse ya que no permitirá evaluar la extensión del tumor más allá de la cápsula.
3. Identificar la **vena renal**, arteria renal y uréter.
4. Identificar **los ganglios linfáticos** perirrenales y perihiliares aunque en la mayoría de las veces suelen venir en frascos separados.
5. Paso muy importante, **antes de efectuar cualquier manipulación, teñir** la superficie de **toda la pieza** y el tejido adiposo hilar.
6. Dejar secar.
7. Incluir el borde de la vena renal, arteria renal y uréter en un bloque aparte así como los ganglios linfáticos perirrenales y perihiliares si estos están presentes, anotando su localización.
8. Abrir la pieza con **un corte longitudinal en el plano coronal** que muestre la relación del tumor con el riñón, la cápsula y el seno renal.
9. **Fotografiar** la superficie de corte y **describirla**.
10. Medir el tamaño del tumor. Describir la superficie de corte y registrar el **porcentaje de tumor necrosado macroscópicamente**.
11. **Tomar muestras tisulares para estudios biológicos:** este paso debe estar supeditado a que exista material suficiente para el diagnóstico. No deben pasar más de 30-60 minutos desde la extirpación quirúrgica. Seleccionar:
 - a) Empleando bisturí y pinzas estériles, cortes de 1 cc de al menos una y, preferiblemente, dos o tres áreas del tumor (especialmente cuando éstas son macroscópicamente distintas).
 - b) Realizar improntas para tinción y evaluación del contenido celular y viabilidad de cada uno de los cortes.
 - c) Si el material en estas muestras resulta viable, biseccionar cada muestra.
 - i) Congelar una mitad para estudios biológicos y conservar a -80°C.
 - ii) Fijar la otra mitad en formol e incluirla en bloque de parafina ("muestra en espejo").
 - d) De la misma forma, deben congelarse dos secciones de tejido renal normal.
 - e) Si son identificables macroscópicamente los restos nefrogénicos, deben tomarse igualmente muestras para congelación.
 - f) Pueden almacenarse improntas adicionales de áreas del tumor, tras secar al aire, para evaluación citogenética.
12. **Fijar la pieza en formol** durante 24-48 horas según el procedimiento habitual del laboratorio. Pueden realizarse varios cortes en paralelo a la sección inicial para asegurar la fijación.
13. **Selección de las áreas de inclusión:**

Incluir **una superficie completa del espécimen** realizando previamente un **esquema o mejor una fotografía** donde se muestre a qué áreas corresponde cada uno de los bloques numerados (mapeo de inclusión).

Pueden, a juicio del patólogo, incluirse áreas más profundas haciendo igualmente constar en la fotografía a qué área corresponden. En el estudio debemos asegurarnos de incluir¹⁰:

 - Áreas dudosas de resección señaladas por el cirujano o el patólogo.
 - Ganglios linfáticos hiliares sinusales si están presentes.
 - Otros ganglios linfáticos.
 - Seno renal, uréter y vasos sinusales. Prestar especial atención a la vena renal para determinar la existencia de un trombo tumoral. **Es importante saber si éste ha sido completamente resecado.**

- Interfase de tumor con riñón normal.
- En lesiones multifocales, cada masa lejos de la masa principal.
- Cápsula tumoral y renal.
- Áreas de la cápsula sospechosas de invasión tumoral.
- Áreas de grasa perirrenal sospechosas de infiltración tumoral (importante para determinar si el tumor ha sido completamente reseado).
- Áreas de tumor adheridas a tejidos circundantes.
- Al menos dos bloques de riñón normal y bloques de áreas de apariencia anormal de tejido renal restante.

Todas las muestras deben ser numeradas y sus localizaciones deben anotarse.

14. Realizar un doble set de laminillas teñidas con HE, uno para el centro local y otro para el centro referente.

III. PAPEL DEL PATÓLOGO EN LA EVALUACIÓN DE PIEZAS DE NEFRECTOMÍA POR NEFROBLASTOMA.

A.- DIAGNÓSTICO DE NEFROBLASTOMA.

Para ello, seguimos los siguientes pasos:

1º.- Evaluar la presencia de cápsula tumoral (imprescindible para el diagnóstico).

2º.- Comprobar la existencia de un patrón mono, bi o trifásico constituido por blastema, epitelio o estroma en cortes del tumor (componente viable)¹¹:

- a) **Blastema:** células pequeñas redondas o alargadas indiferenciadas de apariencia empaquetada con citoplasma escaso y núcleos con cromatina grosera. Un elemento característico es la superposición de los núcleos adyacentes con numerosas figuras de mitosis.
- b) **Epitelio:** representado por túbulos, estructuras papilares y glomerulares de características embrionarias. Puede observarse diferenciación a epitelio de tipo mucinoso o escamoso. A veces puede observarse epitelio ciliado.
- c) **Estroma:** fibroblastos, músculo liso, esquelético, adipocitos, cartílago, hueso u osteoide.

En nefroblastomas previamente tratados, encontraremos además de estos componentes viables, **cambios postquimioterapia caracterizados** por necrosis y estroma fibromixomatoso con macrófagos espumosos.

3º.- Buscar restos nefrogénicos en áreas de tejido renal normal, fundamentalmente en cortes de tejido subcapsular renal y en la periferia del tumor por fuera de la cápsula tumoral. Son focos de células embrionarias que persisten más allá de la semana 36 de gestación y son considerados **como precursores de nefroblastoma**¹². **No están rodeados por cápsula**. Según la **localización topográfica en el parénquima renal** se clasifican en⁵:

- **Perilobares:** en la periferia del lóbulo renal, generalmente subcapsulares, multifocales y bien delimitados del parénquima renal circundante. Fundamentalmente compuestos de blastema y túbulos con escaso componente estromal.
- **Intralobares:** suelen tener una localización central en el lóbulo renal, mal delimitados del parénquima renal. Histológicamente están compuestos fundamentalmente de estroma aunque también pueden presentar blastema y túbulos.

4º.- La inmunohistoquímica tiene un valor limitado y sólo orientativo en la evaluación del nefroblastoma sin que exista un panel específico¹¹. **WT1** puede ser de utilidad, por ejemplo, para diferenciar nefroblastoma blastematoso de otros tumores primitivos (expresión nuclear difusa en blastema y epitelio poco diferenciado).

B.- DETERMINACIÓN DEL SUBTIPO HISTOLÓGICO Y ASIGNACIÓN A UN GRUPO DE RIESGO.

La clasificación SIOP 2001 plantea diferencias según el paciente haya recibido tratamiento quimioterápico preoperatorio o no, estableciendo, en ambos casos, tres grupos de riesgo: bajo, medio y alto (anexo 1)¹³.

Si ha recibido quimioterapia preoperatoria:

- 1º.- En **cada corte** histológico del tumor, cuantificar el porcentaje de **necrosis o cambios regresivos**.
- 2º.- En **cada corte** histológico del tumor, cuantificar el **componente viable** diferenciándose a su vez el porcentaje de blastema, estroma y epitelio.
Debe efectuarse el **promedio** del componente necrótico o regresivo y de cada uno de los componentes viables calculado previamente **en todas** las laminillas que incluyan el tumor.
- 3º.- Determinar la **presencia o ausencia de anaplasia** en células tumorales así como su **distribución** según los criterios establecidos (anexo 2).

A continuación seguir el siguiente razonamiento:

- 1º.- Si el 100% del tumor está constituido por necrosis/cambios regresivos, se clasificará como **completamente necrótico**.
- 2º.- Si los cambios regresivos superan el 66% de la masa tumoral, se clasificará como **nefroblastoma tipo regresivo**.
- 3º.- Si los cambios regresivos constituyen menos del 66% del tumor, se clasifica en base al componente que supere el 66% de la masa tumoral viable.
 - **Nefroblastoma tipo epitelial:** el 66% o más del componente viable del tumor está constituido por epitelio.
 - **Nefroblastoma tipo estromal:** el 66% o más del componente viable del tumor está constituido por estroma.
 - **Nefroblastoma tipo blastematoso:** el 66% o más del componente viable del tumor está constituido por blastema.
 - **Nefroblastoma tipo mixto:** ninguno de los componentes viables supera el 66%.

Nota importante: *de igual modo, según el protocolo SIOP 2001, el nefroblastoma será clasificado como mixto si el componente epitelial o el estromal superan el 66%; pero el blastema constituye más del 10% del tumor viable.*

- 4º.- Si existe anaplasia focal, clasificarlo directamente como **"nefroblastoma con anaplasia focal"**.
- 5º.- Si existe anaplasia difusa, clasificarlo directamente como **"nefroblastoma con anaplasia difusa"**.

Si no ha recibido quimioterapia preoperatoria:

Si no cumple criterios de anaplasia, se clasifica como **"nefroblastoma no anaplásico y sus variantes"**.

Si existe anaplasia, se clasifica como **"nefroblastoma con anaplasia focal" o nefroblastoma con anaplasia difusa** según la distribución topográfica de la misma.

C.- DETERMINACIÓN DEL ESTADIO LOCAL TUMORAL.

El estadio junto con el predominio de blastema tras quimioterapia y la presencia de anaplasia difusa representan los principales factores pronósticos del nefroblastoma^{2,13}. El patólogo debe recibir información, por parte del cirujano, en relación a una rotura tumoral preoperatoria o intraoperatoria.

Según el protocolo SIOP 2001, se distinguen:

Estadio I

- a) El tumor está limitado al riñón o rodeado por pseudocápsula fibrosa si estuviera fuera del contorno renal normal. La cápsula renal o pseudocápsula tumoral puede estar infiltrada por tumor pero sin alcanzar su cara externa y el tumor ha sido completamente resecado (márgenes de resección "libres").
- b) El tumor puede protruir en el sistema pélvico y extenderse dentro del uréter pero sin infiltrar sus paredes.
- c) Los vasos del seno renal están libres de tumor.
- d) Puede existir afectación de los vasos intrarrenales.

Notas:

- La presencia de tumor necrosado o cambios inducidos por la quimioterapia en el seno renal y/o dentro de la grasa perirrenal no debe ser considerado una razón para sobreestadiar el tumor si éste ha sido completamente extirpado y no alcanza los márgenes de resección^{14,18}.

- La PAAF o la biopsia “tru-cut” no sobreestadía el tumor pero el calibre de la aguja debe ser mencionado al patólogo.

Estadio II

- a) El tumor se extiende más allá del riñón o penetra a través de la cápsula renal o la pseudocápsula fibrosa en la grasa perirrenal pero es completamente reseado (márgenes de resección “libres”).
- b) El tumor infiltra el seno renal y/o invade los vasos sanguíneos o linfáticos fuera del parénquima renal pero es reseado completamente.
- c) El tumor infiltra los órganos adyacentes o la vena cava pero es reseado completamente.

Estadio III

- a) Resección incompleta del tumor que se extiende más allá de los márgenes de resección (existen restos tumorales macro o microscópicos postquirúrgicos).
- b) Infiltración de cualquier ganglio linfático abdominal.
- c) Rotura tumoral pre o intraoperatoria (independientemente de otros criterios de estadiaje).
- d) El tumor ha penetrado a través de la superficie peritoneal.
- e) Implantes tumorales en la superficie peritoneal.
- f) Trombo tumoral presente en los márgenes de resección de los vasos o uréter reseado parcialmente por el cirujano.
- g) Tumor biopsiado en cuña previo a la quimioterapia preoperatoria o a la cirugía.

Nota: la presencia de tumor necrosado o con cambios inducidos por la quimioterapia en los márgenes de resección o en ganglio linfático como prueba de que ha habido previamente tumor con restos microscópicos, implica asignación al estadio III (debido a la posibilidad de que exista tumor viable en el ganglio linfático adyacente o más allá del margen de resección).

Estadio IV

Metástasis hematógenas o en ganglios linfáticos fuera de la región abdomino-pélvica.

Estadio V

Tumores renales bilaterales al diagnóstico. Cada lado debe ser subestadiado según la clasificación mencionada.

En la determinación del estadio es útil tener en cuenta las siguientes consideraciones:

- La presencia de vasos y nervios en el tejido adiposo, pelvis renal adyacente, pirámides medulares o corteza renal sin cápsula nos indican que estamos en seno renal¹¹.
- Para considerar que el margen quirúrgico está afecto por cambios regresivos deben verse macrófagos espumosos en contacto con el mismo sin que baste la presencia exclusiva de fibrosis¹⁰.

IV. ELABORACIÓN DEL INFORME ANATOMOPATOLÓGICO.

Parámetros **mínimos** requeridos en el informe anatomopatológico de piezas de resección:

En la información clínica:

- Especificar si se trata de una pieza de nefrectomía primaria o tras tratamiento quimioterápico.
- Especificar si el patólogo ha recibido intacta la pieza del quirófano.
- Lateralidad.

En la macroscopía:

- Tipo de pieza quirúrgica.
- Peso.
- Integridad macroscópica de la cápsula renal.
- Si se ha teñido la pieza antes o después de abrirla.
- Ubicación del tumor.
- Diámetro mayor del tumor.
- Porcentaje macroscópico de necrosis.

- A qué estructuras afecta macroscópicamente el tumor y que puedan influir en el estadio local (ej: tejido adiposo del seno renal, tejido adiposo perirrenal).

En la microscopía:

- A qué estructuras que influyen en el estadio local afecta microscópicamente el tumor así como su viabilidad en las mismas (ej: márgenes quirúrgicos de resección).
- Porcentaje de necrosis/cambios regresivos del tumor.
- Porcentaje de los distintos componentes viables.
- Si existen signos de anaplasia y su distribución.
- Si existen restos nefrogénicos y tipo.

En el apartado de diagnóstico proponemos el siguiente modelo:

RIÑÓN DERECHO O IZQUIERDO (procedimiento quirúrgico).

- TIPO DE TUMOR.
- SUBTIPO HISTOLÓGICO (porcentaje de necrosis/cambios regresivos y porcentaje relativo de cada componente viable de nefroblastoma) Y GRUPO DE RIESGO SIOP 2001 AL QUE PERTENECE.
- ESTADIO LOCAL TUMORAL SIOP 2001 (INDICAR RAZÓN DEL ESTADIO).
- PRESENCIA O AUSENCIA DE RESTOS NEFROGÉNICOS Y TIPO.
- PRESENCIA O AUSENCIA DE ANAPLASIA FOCAL O DIFUSA.

NÚMERO DE GANGLIOS LINFÁTICOS EXAMINADOS Y AFECTACIÓN O NO POR TUMOR.

V. MATERIAL PARA REVISIÓN CENTRALIZADA.

Todos los tumores renales diagnosticados hasta los 18 años deben ser remitidos para revisión centralizada al centro nacional de referencia. Debe enviarse:

- Set completo de láminas teñidas con HE.
- Informe del patólogo local.
- Copia del mapeo fotográfico de la inclusión y fotografía macroscópica de la pieza.
- Bloque de parafina representativo del tumor.
- Formulario F4 del protocolo SIOP 2001.

ANEXO 1: CLASIFICACIÓN REVISADA DE LA SIOP 2001 DE LOS TUMORES RENALES INFANTILES.

Clasificación de los tumores renales infantiles tras quimioterapia (SIOP 2001)¹³.

I. Tumores de bajo riesgo

- Nefroma mesoblástico.
- Nefroblastoma quístico parcialmente diferenciado.
- Nefroblastoma completamente necrótico.

II. Tumores de riesgo intermedio

- Nefroblastoma tipo epitelial.
- Nefroblastoma tipo estromal.
- Nefroblastoma tipo mixto.
- Nefroblastoma tipo regresivo.
- Nefroblastoma-anaplasia focal.

III. Tumores de alto riesgo

- Nefroblastoma tipo blastematoso.
- Nefroblastoma-anaplasia difusa.
- Sarcoma de células claras del riñón.
- Tumor rabdoide del riñón.

Tabla 2. Clasificación de los tumores renales infantiles tras nefrectomía primaria (SIOP 2001)¹³.

I. Tumores de bajo riesgo

- Nefroma mesoblástico.
- Nefroblastoma quístico parcialmente diferenciado.

II. Tumores de riesgo intermedio

- Nefroblastoma no anaplásico y sus variantes.
- Nefroblastoma-anaplasia focal.

III. Tumores de alto riesgo

- Nefroblastoma-anaplasia difusa.
- Sarcoma de células claras del riñón.
- Tumor rabdoide del riñón.

ANEXO 2: CRITERIOS DE ANAPLASIA.

Para calificar un nefroblastoma como anaplásico deben encontrarse tres criterios en células tumorales^{15;11}. Es importante recalcar que los tres criterios deben estar presentes:

- **Hipercromasia.**
- **Tamaño nuclear tres veces** el de las células no anaplásicas (el aumento de tamaño debe ser en todas las dimensiones sin que sea suficiente la presencia de núcleos alargados)¹¹.
- **Mitosis atípicas tri o multipolares** (pueden adquirir forma de "x" o "y" pero su tamaño debe triplicar el de una metafase normal)¹¹.

La presencia de **una sola mitosis** puede ser suficiente para considerar al tumor como anaplásico si se cumplen los demás criterios¹⁰.

Para poder clasificar la anaplasia como focal o difusa, en la actualidad se siguen los siguientes criterios^{16,17}:

Anaplasia focal:

- Los cambios nucleares están concentrados en un foco de células dentro del tumor.
- Se acepta que un tumor con más de un foco de anaplasia sea catalogado de anaplasia focal siempre que estén lo suficientemente localizados como para estar contenidos en un sólo corte histológico.
- Cuando la distribución de la anaplasia no es focal, se considera anaplasia difusa.

La definición topográfica de anaplasia focal hace obligatorio que los patólogos documenten cuidadosamente el lugar exacto del que se obtiene cada sección.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Howlander N, Noone AM, Krapcho M, et al eds. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Disponible en: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010 Accessed October 7 2014.
2. Chan CC, To KF, Shing Chiang AK et al. A 20 year prospective study of Wilms tumor and other kidney tumors: a report from Hong Kong pediatric hematology and oncology study group. *J Pediatr Hematol Oncol* 2014 Aug; 36 (6): 445-50.
3. Malkan AD, Loh A, Baharami A, et al. An approach to Renal Masses in Pediatrics. *Pediatrics* 2015; Jan; 135(1):142-148.
4. Birch JM, Breslow N. Epidemiologic features of Wilms tumor. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995; 9:1157-78.
5. Al-Hussain T, Ali A, Akhtar M. Wilms tumor: an update. *Adv Anat Pathol* 2014; 21(3):166-73.
6. Vujanic GM, Sandsted B, Kesley A, et al. Central pathology review in multicentre trials and studies: lessons from the nephroblastoma trials. *Cancer* 2009; 115:1977-83.
7. Neville HL, Ritchey ML. Wilms tumor. Overview of National Wilms Tumor Study Group results. *Urol Clin North Am* 2000; 27:435-42.
8. de Kraker J, Graf N, van Tinteren H, et al. Reduction of postoperative chemotherapy in children with stage I intermediate-risk and anaplastic Wilms' tumour (SIOP 93-01 trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 364:1229-35.
9. Weirich A, Leuschner I, Harms D, et al. Clinical impact of histologic subtypes in localized no-anaplastic nephroblastoma treated according to the trial and study SIOP-9/GPOH. *Annals of Oncology* 2001; 12: 311-319.

10. Vujanic GM, Sandstedt. The pathology of Wilms' tumour (nephroblastoma): the International Society of Paediatric Oncology approach. *J Clin Pathol* 2010; 102-109.
11. Murphy WM, Grignon DJ, Perlman EJ. Kidney Tumors in Children. En: Murphy WM, Grignon DJ, Perlman EJ. Tumors of the Kidney, Bladder and Related Urinary Structures. Atlas of Tumor Pathology, Fourth Series, Fascicle 1. Washington DC: AFIP; 2004; 1-100.
12. Beckwith JB, Kiviat NB, Bonadio JF. Nefrogenic rests, nephroblastematosi, and the pathogenesis of Wilms' tumor. *Pediatr Pathol* 1990; 10:1-36.
13. Vujanic GM, Sandstedt B, Harms D, et al. Revised International Society of Paediatric Oncology (SIOP) working classification of renal tumors of childhood. *Med Pediatr Oncol* 2002; 38:79-82.
14. Vujanic GM, Harms D, Bohoslavsky R, et al. Non-viable tumour tissue should not upstage Wilms' tumour from stage I to stage II. A report from the SIOP 93-01 nephroblastoma trial and study. *Pediatr Develop Pathol* 2009;12: 111-5.
15. Zuppan CW, Beckwith JB, Luckey DW. Anaplasia in unilateral Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Pathology Center. *Hum Pathol* 1988; 19:1199-209.
16. Faria P, Beckwith JB, Mishra K, et al. Focal versus diffuse anaplasia in Wilms tumor. New definitions with prognostic significance. A report from the National Wilms Tumor Study Group. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:909-920.
17. Vujanic GM, Harms D, Sandstedt B, et al. New definitions of focal and diffuse anaplasia in Wilms tumor. The International Society of Paediatric Oncology experience. *Med Pediatr Oncol* 1999; 32:317-323.
18. Weirich A, Leuschner I, Janig U, et al. Discrimination between SIOP stage I and stage II with respect to regressive tissue in localised non-anaplastic Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol* 2000; 35:212.

Retinoblastoma

Mariona Suñol.

Hospital Universitario Sant Joan de Deu, Barcelona.

I. INTRODUCCIÓN

El retinoblastoma es el tumor primario intraocular más frecuente en niños. Existen básicamente dos formas de retinoblastoma, una de ellas con herencia autosómica dominante que constituye un 30-40% de los casos y una esporádica, que representa el restante 60-70% de casos.¹ Pacientes con retinoblastoma hereditario tienen mutación en línea germinal en un alelo del gen del retinoblastoma (Rb) en la localización 13q14 y desarrollan una segunda mutación en el otro alelo. En los casos esporádicos, ambos alelos presentan mutaciones somáticas. El retinoblastoma puede ser bilateral en un 25% de los casos en países desarrollados,² constituyendo el 90% de los casos familiares. Algunos pacientes con retinoblastoma bilateral muestran un tumor similar en la glándula pineal, denominado retinoblastoma trilateral. El pronóstico del retinoblastoma es mayor al 95% de supervivencia a los 5 años si es unilateral, aunque es algo menor a largo plazo si es bilateral a consecuencia de la ocurrencia de segundos tumores. Cuando un ojo con retinoblastoma es enucleado, su tratamiento está en función de las estructuras afectadas que se consideran factores de riesgo de desarrollo de metástasis². En estadios tempranos, se puede intentar la conservación ocular y el tratamiento de elección suele ser la quimioterapia intravenosa o más recientemente intra-arterial junto con terapia local como la crioterapia, fotocoagulación con laser, o radiación con placa de radioterapia. En tumores bilaterales, se ha prácticamente eliminado el uso de radioterapia externa para limitar sus efectos en la inducción de segundas neoplasias.

Clasificación Internacional del retinoblastoma (International Retinoblastoma Classification: Staging System):

- **Estadio 0:** Pacientes sin enucleación se tratan con terapia conservadora.
- **Estadio I:** Pacientes con enucleación, resección completa del tumor, incluye afectación del nervio óptico sin infiltración del margen quirúrgico. Requiere quimioterapia adyuvante.
- **Estadio II:** Pacientes con enucleación que muestra tumor en el margen del nervio óptico o invasión transescleral. Según la extensión microscópica de la enfermedad recibirá quimioterapia con o sin radioterapia.
- **Estadio III:** Pacientes con extensión regional en ganglios linfáticos o la órbita ya sea a través de la esclera o a través del nervio óptico. El tratamiento será quimioterapia más radioterapia y cirugía (enucleación o exenteración).
- **Estadio IV:** Pacientes con enfermedad metastásica hemática o a SNC. Quimioterapia a altas dosis y rescate con stem cells autólogas

Sin embargo, existe una gran controversia en las indicaciones de terapia adyuvante en pacientes con enfermedad de alto riesgo y en los últimos años se ha propuesto indicación de terapia adyuvante solo

en aquellos casos que sean realmente de muy alto riesgo. Los factores de riesgo de metástasis de retinoblastoma se han evaluado por parte de múltiples autores y existen algunos puntos de controversia. En lo que claramente se está de acuerdo es en la invasión del margen quirúrgico del nervio óptico y la invasión extraescleral como factores de riesgo altamente predictivos de muerte por retinoblastoma y por tanto, de la necesidad de quimioterapia adyuvante.^{3,2} La invasión del nervio óptico en su porción preliminar no se considera un factor de riesgo y el pronóstico es igual que la no invasión de nervio óptico³ y por tanto no requiere de terapia adyuvante.² Sin embargo, todavía existe debate en el valor pronóstico de invasión de otras estructuras como son la invasión de coroides y la invasión del nervio óptico en su porción postlaminar.³ Recientes estudios han demostrado que pacientes con invasión focal de coroides, cámara anterior, e invasión del nervio óptico en su porción retrolaminar con márgenes negativos sin asociación de invasión de coroides o esclera no precisan un tratamiento de quimioterapia adyuvante. Solo los casos de tumores con afectación de esclera, invasión del nervio retrolaminar con concomitante invasión escleral o coroidal o, invasión del margen quirúrgico, son criterios reales de alto riesgo y se pueden beneficiar de terapia adyuvante.²

Así se ha considerado que:

- Invasión de cámara anterior, no indicación de quimioterapia adyuvante*.
- Invasión aislada de coroides, no quimioterapia
- Invasión preliminar o postlaminar sin invasión del margen de resección, no quimioterapia*
- Invasión postlaminar del nervio óptico con invasión concomitante de esclera o invasión coroidal o invasión del margen quirúrgico, quimioterapia adyuvante.²
- Invasión postlaminar con margen del nervio óptico afectado: radioterapia y quimioterapia sistémica
- Invasión de la esclera, quimioterapia adyuvante

* La French Society for Pediatric Cancer y el COG si indican quimioterapia.

II. ASPECTOS HISTOLÓGICOS DEL RETINOBLASTOMA

Dada la importancia de la valoración de los factores de riesgo de metástasis del retinoblastoma, es importante tener en cuenta su correcta definición histológica.

Invasión focal de coroides: foco tumoral de menos de 3mm en cualquier diámetro (espesor o anchura) y que no alcanza la esclera.⁴

Invasión masiva de coroides: cuando el diámetro máximo (espesor o anchura) del foco invasivo de tumor mide 3mm o más en cualquier diámetro. Además, la mayoría de estos tumores alcanzan al menos las fibras internas de la esclerótica.⁴

Siembras artefactuales: pequeños grupos de células, usualmente con células necróticas, presentes en los espacios naturales del ojo (vasculares coroidales o supracoroidales, cámara anterior, o espacio subaracnoideo del nervio óptico), en espacios creados por artefacto de corte, y/o en superficies del ojo (epiesclera, meninges del nervio óptico y partes blandas junto al nervio óptico).⁴

Invasión tumoral real de coroides: nidos tumorales sólidos de márgenes expansivos o infiltrativos, expandiendo y reemplazando el área invadida. Estos, no presentan necrosis a menos que el tumor sea extremadamente grande.⁴

Invasión del nervio óptico: para obtener la máxima profundidad de invasión del nervio óptico, el tumor se debe medir desde el nivel de la membrana limitante del disco óptico, la salida de los grandes vasos centrales, o, si ninguna de estas estructuras se conservan, desde el nivel de la membrana de Bruch hasta el lugar más profundo de la invasión.⁴

Necrosis extensa: presencia de necrosis en más del 95% de células tumorales y de tejidos intraoculares adyacentes.⁵

Rosetas de Flexner-Wintersteiner: las células se alinean alrededor de una luz central vacía delineadas por un círculo eosinofílico compuesto por barras de terminales citoplasmáticas análoga a la membrana limitante externa de la retina normal.

Rosetas de Homer-Wright: Similares a las rosetas de Flexner-Wintersteiner, con núcleo dispuesto hacia a fuera, sin una luz central

Fleurettes: células tumorales en su máxima diferenciación hacia fotorreceptores.

Indiferenciado: constituido únicamente por células indiferenciadas.

Bien diferenciado: presencia de rosetas de Flexner-Wintersteiner, Homer-Wright y fleurettes ocupando más de un 80% de la superficie tumoral.

Moderadamente diferenciado: Mezcla de componente indiferenciado y de diferenciado, ocupando este último menos de un 80% de la superficie tumoral.⁶

III. RECOMENDACIONES PARA EL INFORME DE PIEZAS DE ENUCLEACIÓN POR RETINOBLASTOMA.

El informe anatomopatológico debe tener como objetivo obtener la suficiente información que permita un correcto manejo clínico del paciente. Para ello se requiere una adecuada información clínica, examen macroscópico y examen microscópico de la pieza quirúrgica de enucleación.

Globo ocular. Eucleación:

1. Información clínica:

- a) Edad del paciente
- b) Sexo
- c) Estatus del otro ojo
- d) Tratamientos previos, sistémicos, intraarteriales o locales.
- e) Historia familiar
- f) Procedimiento quirúrgico. Eucleación.
- g) Localización anatómica. Lateralidad (ojo derecho/izquierdo)

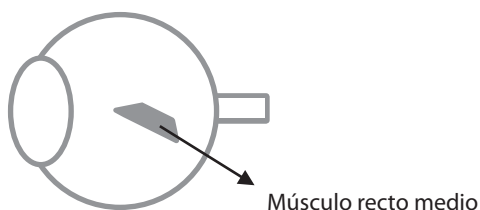
2. Examen macroscópico (ver esquema)

- a) Pieza de enucleación en fresco inmediatamente postcirugía.
- b) Orientación del globo ocular en base a la identificación previa de la inserción del músculo recto medio o recto externo. (ver esquema)
- c) Anomalías externas
- d) Dimensiones del globo ocular:
 - i) Plano frontal, sagital y transversal.
 - ii) Longitud y diámetro del nervio óptico.
 - iii) Diámetro de la cornea horizontal y vertical.
- e) Sección del margen del nervio óptico previo a la apertura del globo ocular para evitar contaminaciones.⁴ (ver esquema)
- f) Sección del globo ocular realizando una apertura en la esclera por la cúpula superior, de posterior hacia anterior (ver esquema), preferentemente sobre una placa de petri.
- g) Se toma un pequeño fragmento de tumor en fresco para congelar, de zonas no necróticas y preservar en congelador a -80°C.
- h) Se recoge el líquido derramado en la placa de petri correspondiente a humor vítreo, con posibles siembras, con el que se realiza, si es posible, cultivo celular.
- i) Se fija en formaldehído durante 48 horas
- j) Visualización del tumor indicando:
 - i) Localización
 - ii) Color
 - iii) Consistencia
 - iv) Forma
 - v) Tamaño
 - vi) Distancia del margen posterior de la base del tumor al disco óptico.

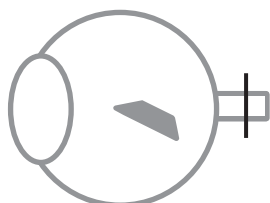
- vii) Extensión extraesclerótica, si está presente, localización y extensión (2 dimensiones)
 - viii) Estructuras afectadas y extensión. Extensión de afectación de la retina, cámara anterior, nervio óptico, siembras vítreas, multifocalidad, etc
 - k) Estructuras oculares no afectadas: córnea, cámara anterior, retina, desprendimiento, hemorragia, etc
 - l) Secciones realizadas para su evaluación microscópica: Secciones transversales o sagitales en función de la localización del tumor (ver esquema):
 1. Sección de la cúpula superior del globo
 2. Sección transversal (o sagital) que incluye el nervio óptico
 3. Sección de la cúpula inferior del globo
- 3. Examen microscópico**
- a) Tumor:
 - i) Patrón de crecimiento: endofítico, exofítico o mixto
 - ii) Grado de diferenciación:
 1. Indiferenciado
 2. Bien diferenciado
 3. Moderadamente diferenciado.⁶
 - iii) Localización
 - iv) Tamaño
 - v) Estructuras afectadas: coroides, cuerpo ciliar, iris, vítreo, ángulo, esclera
 - vi) Extensión del tumor: cámara anterior, nervio óptico (pre, intra o postlaminar) y margen quirúrgico del nervio óptico⁷
- 4. Hallazgos histológicos adicionales** relacionados o no con el tumor como la necrosis extensa.⁵

IV. ESQUEMA DE PROCESAMIENTO MACROSCÓPICO DEL GLOBO OCULAR EN RETINOBLASTOMA:

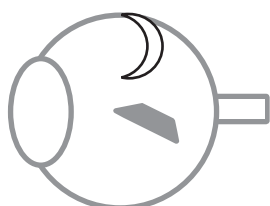
1^{er} paso: orientación según identificación del músculo recto medio o recto externo



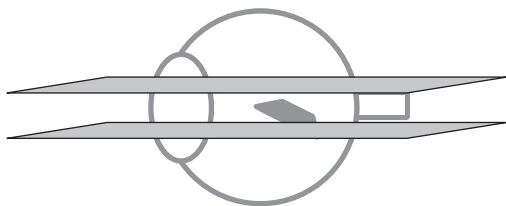
2^o paso: sección del margen quirúrgico del nervio óptico, e inclusión.



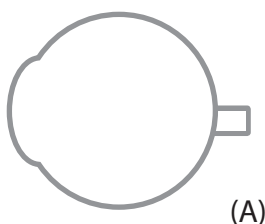
3^{er} paso: sección de una ventana en la cúpula del globo ocular sobre una placa de petri



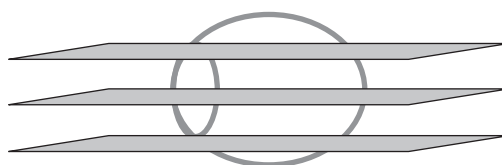
4º paso: Postfijación durante 48 horas y realizar cortes transversales para valoración de estudio microscópico.



5º paso: Inclusión: sección transversal que incluye el nervio óptico (A), del que se realizarán múltiples cortes histológicos para valorar su infiltración y sección de la cúpula superior e inferior (varios cortes en su diámetro sagital o antero-posterior)(B).⁴



(A)



(B)

BIBLIOGRAFÍA:

1. Ramon L. Font, J. Oscar Croxatto, nursing A. Rao. Retinoblastoma. In: Tumors of the Eye and Ocular Adnexa, 4nd ed. Steven G. Silverberg, Leslie H. Sobin editors. ARP and AFIP 85-103.
2. Chantada GL, Dunkel IJ, de Dávila MT, Abramson DH. Retinoblastoma patients with high risk ocular pathological features: who needs adjuvant therapy? Br J Ophthalmol. 2004 Aug;88(8):1069-73.
3. Khelfaoui F, Validire P, Auperin A, Quintana E, Michon J, Pacquement H, Desjardins L, Asselain B, Schlienger P, Vielh P, et al. Histopathologic risk factors in retinoblastoma: a retrospective study of 172 patients treated in a single institution. Cancer. 1996 Mar 15;77(6):1206-13.
4. Sastre X, Chantada GL, Doz F, Wilson MW, de Davila MT, Rodríguez-Galindo C, Chintagumpala M, Chévez-Barrios P. Proceedings of the consensus meetings from the International Retinoblastoma Staging Working Group on the pathology guidelines for the examination of enucleated eyes and evaluation of prognostic risk factors in retinoblastoma. Arch Pathol Lab Med. 2009 Aug;133(8):1199-202.
5. Chong EM, Coffee RE, Chintagumpala M, Hurwitz RL, Hurwitz MY, Chévez-Barrios P. Arch Pathol Lab Med. Extensively necrotic retinoblastoma is associated with high-risk prognostic factors. 2006 Nov;130(11):1669-72.
6. Protocolo RB SFOP 2001 Institut Curie
7. Daniel Albert and Nasreen Syed. Protocol for the examination of specimens from patients with retinoblastoma. Arch Pathol Lab Med. 2001 Sep;125(9):1183-8.

Neuroblastoma

Samuel Navarro

Hospital Clínico Universitario de Valencia. Universidad de Valencia.

I. INTRODUCCIÓN

El Neuroblastoma constituye la neoplasia pediátrica sólida extracraneal más frecuente. Derivada de las células precursoras del Sistema Nervioso Simpático, puede diagnosticarse en cualquier localización de dicho sistema, aunque aproximadamente la mitad de los casos asientan en la glándula suprarrenal comportándose como masas abdominales.

Se caracteriza por la posibilidad de producir y segregar catecolaminas cuyos metabolitos pueden ser determinados en suero y orina.

Es uno de los tumores más enigmáticos en el ser humano, pudiendo en ocasiones regresar o madurar espontáneamente o tras tratamiento quimioterápico, aunque en otros casos, su comportamiento es agresivo, con rápida progresión de la enfermedad, diseminación metastásica y comportamiento fatal a pesar de un tratamiento intensivo.

II. ASPECTOS CLÍNICOS

Desde el punto de vista clínico, hay dos factores importantes que marcan el pronóstico de la enfermedad tumoral, que son la edad (más favorable en niños menores de 18 meses) y el estadije tumoral, bien utilizando el sistema clásico INSS (considera los estadios 1, 2, 3, 4, 4S) o bien la más reciente clasificación en grupos de riesgo de la INRG, que reconoce los estadios localizados L-1 y L-2 y los metastásicos M y MS.(1,2,3)

III. ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Dependiendo del estadije, la actitud terapéutica varía y así, se supone que los estadios localizados, son susceptibles de tratamiento quirúrgico. Ello va a implicar que el patólogo va a poder recibir diferentes tipos de muestra para su análisis morfológico, inmunohistoquímico y molecular.

En el caso de resecciones quirúrgicas completas, el espécimen a ser posible, debe recibirse en fresco, tomándose muestras para congelación utilizables en estudios de Biología Molecular así como archivando muestras en el biobanco pertinente.

El protocolo de talleo de la pieza quirúrgica incluye la descripción macroscópica del tumor con sus diámetros máximos así como el pesaje de la pieza.

Es importante la posible detección de uno o varios nódulos, así como la presencia de necrosis y calcificación especialmente en casos tratados con quimioterapia previa.

El estudio de los márgenes quirúrgicos se facilitará pintando la superficie de la pieza con tinta china. Posteriormente, se realizará varias secciones de la pieza para su estudio histopatológico e inmunohistoquímico.

El procesado histológico es el convencional: fijación formólica e inclusión en parafina. En el caso de recibir las piezas en fresco, se recomienda realizar improntas citológicas para posteriores estudios moleculares (FISH).

En aquellos casos irresecables o en estadios avanzados metastáticos, el material remitido puede ser un fragmento obtenido por procedimientos quirúrgicos, biopsias con aguja gruesa (de 3 a 5 muestras), o aspirados de medula ósea.

Para el estudio histopatológico se usa actualmente la clasificación INPC (International Neuroblastoma Pathology Classification). Basada en una modificación del sistema Shimada, esta clasificación no solo posee valor diagnóstico, sino también impacto pronóstico.⁽⁴⁾

Este sistema distingue las siguientes categorías principales:

Neuroblastoma pobre en estroma Schwaniano, que a su vez presenta tres subtipos:

Neuroblastoma indiferenciado: se considera así cuando la neoplasia está constituida por células neuroblásticas sin neuropilo aparente. Desde el punto de vista histológico, forma parte de la familia de tumores de células redondas y debe realizarse diagnóstico diferencial con el tumor de Ewing/PNET, Rabdomiosarcoma sólido alveolar, Tumor de Wilms con predominio blastematoso y con el Linfoma linfoblástico.

Neuroblastoma pobremente diferenciado: Es un tumor pobre en estroma con neuroblasto y neuropilo evidente. La presencia de células en diferenciación debe ser inferior al 5% de la población tumoral. En este subtipo son características las pseudorosetas de Homer-Wright.

Neuroblastoma en diferenciación: Aquí, observamos más del 5% de celularidad tumoral con rasgos de diferenciación. Para definir un neuroblasto en diferenciación, el citoplasma ha de ser amplio y eosinófilo (dos veces mayor tamaño que el núcleo). El núcleo es redondeado con nucleolo prominente.

Neuroblastoma rico en estroma. El subtipo histológico característico es el denominado Ganglioneuroblastoma entremezclado, constituido por un estroma Schwaniano abundante en el que se entremezclan neuroblastos que a menudo presentan rasgos de diferenciación.

Neuroblastoma con estroma Schwaniano dominante. Esta categoría incluye al Ganglioneuroma en maduración y al Ganglioneuroma maduro, consistentes en tumoración con un estroma prominente y células ganglionares en maduración (pequeño tamaño) o bien células ganglionares maduras.

Existe un tipo especial de Neuroblastoma denominado **Ganglioneuroblastoma nodular** que representa a un tumor rico o dominante en estroma con presencia de uno o varios nódulos compuestos por Neuroblastoma pobre en estroma.

Cuando el tumor no puede ser clasificado en las categorías anteriormente mencionadas, bien por material escaso o artefactado, se puede utilizar el término **Neuroblastoma NOS**.

Otro de los factores imprescindibles que deben ser evaluados en esta clasificación es el denominado Índice Mitosis-cariorrexis (MKI), cuyo impacto histopronóstico es fundamental. La evaluación consiste en el conteo de figuras mitóticas y/o de cariorrexis en un total de 5000 células neuroblásticas. Se considera MKI alto si se evidencian más de 200 figuras/5000 células. Si se aprecian entre 100 y 200 figuras hablaremos de MKI intermedio. En el caso de observar menos de 100 figuras, el MKI será considerado bajo. El impacto pronóstico de la clasificación INPC, tiene en cuenta la edad del paciente, el MKI y la categoría tumoral distinguiendo así los casos con histopronóstico favorable y desfavorable (4).

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, el panel básico de marcadores para diagnóstico incluye los siguientes marcadores: NB-84, Tirosin-hidroxilasa (TH), CD-56(N-CAM), Synaptofisina, y Proteína S-100 (para identificar el componente Schwaniano).

En el caso de los Neuroblastomas indiferenciados, el diagnóstico diferencial con los otros tumores de células redondas anteriormente mencionados, incluye la detección inmunohistoquímica de CD-99 (tumor de Ewing y Linfoma Linfoblástico), myogenina, Myo-D1 y desmina (Rabdomiosarcoma sólido alveolar) y WT-1, (Tumor de Wilms).

El modelo de informe anatomopatológico utilizado por el panel de patólogos de la SIOP para la revisión de los casos de Neuroblastoma incluidos en los distintos protocolos europeos incluye aparte de las categorías y el MKI, información de la presencia de calcificación, estado de los márgenes quirúrgicos, la invasión ganglionar así como el % de neuroblastos y células de Schwann para los futuros estudios biológicos.

IV. MARCADORES MOLECULARES DE IMPORTANCIA PRONOSTICA/TERAPEUTICA

Adicionalmente a los factores clínicos (edad y estadióje) y anatomopatológicos (INPC) se ha demostrado el impacto pronóstico y su influencia en las estrategias terapéuticas, de diversos marcadores moleculares.

La alteración genética de mayor relevancia es la amplificación del oncogén N-MYC localizado en el cromosoma 2 (2p24). Esta alteración ocurre entre el 20 y el 25% de los Neuroblastomas primarios y está fuertemente asociada a casos desfavorables, de comportamiento agresivo, estadios avanzados y alto riesgo de recaídas y progresión tumoral. La amplificación de N-MYC fué el primer marcador genético incluido obligatoriamente en los sistemas de estratificación de riesgo y así, los pacientes con esta alteración son considerados siempre de alto riesgo.(3)

El estatus de N-MYC se determina mediante técnica de FISH.

Otra alteración genética importante asociada a mal pronóstico es la pérdida de 11q, presente en el 20-30% de pacientes, estando inversamente relacionada con la amplificación de N-MYC, indicando que estas anomalías representan distintos subtipos genéticos de Neuroblastoma en estadios avanzados. (5,6)

La determinación del contenido de ADN o ploidía tumoral, medida por citometría estática o citometría de flujo, también ha demostrado impacto pronóstico, especialmente en niños menores de 12-18 meses con enfermedad diseminada sin amplificación de N-MYC. Así, tumores con contenido diploide/tetraploide, presentan una inestabilidad genómica con múltiples reacomodamientos genéticos, resultando en un comportamiento desfavorable.(4)

Otros marcadores genéticos con impacto pronóstico incluye la delección del brazo corto del cromosoma 1 (del 1p36), identificada en el 25-30% de los casos. Esta alteración, se correlaciona con la amplificación de NMYC, y predice un alto riesgo de recaídas en pacientes con Neuroblastoma localizado.(6)

La ganancia de 17q es otro de los marcadores asociados a alto riesgo y estadios avanzados, estando considerada como un factor independiente de pronóstico adverso.(7)

ALK, situado en el cromosoma 2 (2p23.2) está activado por mutaciones y/o amplificaciones en casos de Neuroblastoma familiar y esporádico.

También se han descrito mutaciones del gen PHOX2B, asociadas a mal pronóstico. Actualmente se están llevando a cabo estrategias terapéuticas utilizando antagonistas de estos genes como dianas terapéuticas.(8)

Utilizando técnicas pangenómicas de alto rendimiento, se ha demostrado el impacto pronóstico de las aberraciones segmentarias cromosómicas (del1p, 3p,4p,11q y ganancias de 1q,2p,y 17), estando asociadas a alto riesgo de recaídas.

Finalmente, la expresión de microARNs como el 25 miARN y los cambios epigenéticos como el fenotipo metilador, son considerados como factores de impacto pronóstico desfavorable.(9,10)

REFERENCIAS

1. Cohn SL, Pearson AD, London WB, et al: The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: An INRG task force report. *J Clin Oncol* 2009;27:289-97.
2. Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL. Neuroblastoma. *Lancet* 2007;369:2106-20.
3. Brodeur GM. Neuroblastoma: Biological insights into a clinical enigma. *Nat Rev Cancer* 2003;3:203-16.
4. Shimada H, Ambros IM, Dehner LP, et al. The International neuroblastoma pathology classification (the Shimada system). *Cancer* 1999;86:364-72.
5. Navarro S, Piqueras M, Villamon E, et al. New prognostic markers in neuroblastoma. *Expert Opin Med Diagn* 2012;5:555-67.

6. Attiyeh EF, London WB, Mosse YP, et al. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Engl J Med* 2005;353:2243-53.
7. Bown N, Cotterill S, Lastowska M, et al. Gain of chromosome arm 17q and adverse outcome in patients with neuroblastoma: *N Engl J Med* 1999;1954-61.
8. Bachetti T, Di Paolo D, Di Lascio S, et al. Phox2b-mediated regulation of alk expression: in vitro identification of a functional relationship between two genes involved in neuroblastoma. *PLoS One* 2010;5(10). pii:e13108.
9. De Preter K, Mestdagh P, Vermeulen J, et al. Mirna expression profiling enables risk stratification in archived and fresh neuroblastoma tumor samples. *Clin Cancer Res* 2011;17:7684-92.
10. Alaminos M, Davalos V, Cheung NK, et al. Clustering of gene hypermethylation associated with clinical risk groups in neuroblastoma. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1208-19.

Neoplasias de partes blandas. Protocolos de biopsias y piezas quirúrgicas.

David Marcilla, Enrique de Álava.

Unidad de Gestión Intercentros de Anatomía Patológica. H.H.U.U Virgen del Rocío. Sevilla

I. INTRODUCCIÓN

Las neoplasias de partes blandas representan un grupo poco frecuente y heterogéneo de lesiones mesenquimales. Su prevalencia varía entre los tumores benignos (3000 casos por millón de habitantes) y sarcomas, que suponen menos del 1% de todos los tumores malignos. Actualmente existen más de 100 tipos histológicos de neoplasias que se diagnostican y clasifican según criterios establecidos y publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS 2013). Aun así, esta clasificación continua evolucionando como resultado de los avances en técnicas de patología molecular y citogenética. En la última década el diagnóstico histopatológico ha sido apoyado de manera significativa mediante el uso de nuevas herramientas de diagnóstico molecular, que nos han permitido detectar alteraciones genéticas específicas en determinados tumores, permitiendo así una mejora significativa en los diagnósticos y solucionando en ocasiones diagnósticos diferenciales entre entidades cuya evolución clínica, tratamiento y pronóstico pueden diferir.

El manejo de los tumores de partes blandas requiere un abordaje multidisciplinar en centros de referencia y que incluya patólogos, radiólogos, cirujanos, oncólogos médicos y oncólogos radioterapéuticos. Así como un diseño y evaluación que incorpore técnicas diagnósticas moleculares que nos permitan optimizar el diagnóstico.

Esta guía pretende resumir los diferentes procedimientos, actuaciones, sistemas de gradación y protocolos macro y microscópico en el manejo de los sarcomas de partes blandas (SPB).

El objetivo es proporcionar una serie de recomendaciones que puedan contribuir a mejorar el manejo y evaluación patológica de los sarcomas de partes blandas en nuestro medio.

II. ESTUDIOS DE IMAGEN.

El acceso a pruebas de imagen (RMN, TAC) nos puede aportar una gran información tanto en lo referente a su localización y extensión, como a la relación del tumor con estructuras vasculares o nerviosas, así como su heterogeneidad, presencia o no de calcificaciones, componente graso, etc. En caso de pacientes sometidos a tratamiento neoadyuvante la comparativa de las pruebas de imagen pre y post-neoadyuvancia pueden ser de gran utilidad para realizar una estimación de la respuesta patológica.

III. TIPOS DE PROCEDIMIENTOS.

A. **Biopsia con aguja:** biopsias cerradas. Actualmente es el método más extendido para realizar un diagnóstico preoperatorio, habiendo reemplazado a la PAAF y evitando estudios intraoperatorios

por congelación. Generalmente la técnica se realizará mediante control radiológico (ECO o TAC), evitando así obtener muestras de zonas de necrosis. Debido a la limitación de la muestra, en ocasiones no es posible establecer con seguridad un diagnóstico histológico, en estas situaciones puede ser necesaria una biopsia incisional. Por otro lado, los SPB son tumores heterogéneos y en una muestra pequeña puede infravalorarse el grado histológico. De este modo, a no ser que aparezca un alto grado obvio en la biopsia por aguja, el grado histológico definitivo se establece en la pieza quirúrgica

- B. **Resección intralesional:** legrado o curetaje intratumoral. No se evalúan márgenes. O bien resecciones marginales en la que existe afectación inintencionada del margen.
- C. **Resección marginal (biopsia excisional):** tumorectomía que incluyen pseudocápsula con escaso tejido peritumoral adherido (generalmente colgajos de tejido adiposo). Aunque macroscópicamente el margen está libre de neoplasia, en ocasiones se identifica afectación microscópica del plano de resección. En tal caso pasaría a tratarse de una resección intralesional.
- D. **Resección amplia:** Resecciones compartimentales que incluyen tumor con pseudocápsula y un rodete de tejido normal, sin llegar a resecar un grupo muscular completo, compartimento o hueso.
- E. **Resección radical:** En ellas se incluyen compartimentos completos o amputaciones. En caso de amputación de extremidades se puede congelar el miembro a menos 80°C durante no más de 24-48h **. Posteriormente se procederá a la sección del mismo. Este sistema de corte tras congelación nos permite tener una mejor relación tumoral con las diferentes estructuras anatómicas.

** No es aconsejable mantener la pieza congelada más de 48 h, para evitar artefactos de congelación en el tejido, que pueden dificultar posteriormente su valoración histológica (principalmente en casos de neoadyuvancia).

En los casos de pacientes previamente biopsiados y remitidos desde otros centros hospitalarios, se recomienda solicitar el material de biopsia y/o resección (preferentemente bloques de parafina), así como el informe anatomopatológico, para revisión y confirmación histológica.

IV. MÁRGENES

En las piezas de resección el estudio de los márgenes quirúrgicos es esencial. La mayoría de las piezas contienen seis márgenes (superficial/profundo, proximal/distal y medial/lateral), estos deberán venir referenciados e identificados desde quirófano. En casos complejos la realización de un diagrama o dibujo por parte del equipo quirúrgico puede resultar de gran ayuda. Debe medirse la distancia del tumor a los márgenes, especificando la localización, la distancia y marcando con tinta los que se encuentran a menos de 2 cm. Indicando además el tipo de tejido que constituye el margen (fascia, adventicia, epineuro, músculo o periostio). También deben especificarse los márgenes en las piezas de resección de metástasis. Para el estudio de márgenes lo ideal es realizar inclusiones perpendiculares.

V. LOCALIZACIÓN Y PROFUNDIDAD

Se consideran tumores superficiales todos aquellos en los que no exista afectación de la fascia muscular. Los tumores con origen superficial (piel o tejido celular subcutáneo) pero con extensión a fascia y aquellos localizados por debajo de la misma se consideran profundos. Los sarcomas viscerales y de retroperitoneo se consideran profundos.

VI. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA (OMS 2013)

El diagnóstico del tipo histológico debe realizarse de acuerdo a la clasificación de los sarcomas publicada por la Organización Mundial de la Salud en 2013, que integra datos morfológicos, inmunohistoquímicos, citogenéticos y moleculares.

VII. SISTEMAS DE GRADACIÓN HISTOLÓGICA

Para la gradación de los tumores de partes blandas del adulto los dos sistemas más utilizados son los elaborados por el Instituto Nacional del Cancer (NCI) y por la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre Le Cancer (FNCLCC). Sin embargo y teniendo en cuenta el valor predictivo en lo que se refiere a enfermedad metastásica y mortalidad, actualmente se recomienda el desarrollado por la FNCLCC.

Respecto a los sarcomas en edad infantil, en 1986 el Pediatric Oncology Group (POG) condujo un estudio prospectivo de sarcomas de partes blandas infantiles, excluyendo el rhabdomyosarcoma, y elaboró un sistema basado en el sistema NCI que fue adaptado para su uso en la gradación los sarcomas de partes blandas en edad pediátrica, no rhabdomyosarcoma (NRSTS). Este sistema fue comparado con el FNCLCC y los dos sistemas de gradación probaron ser de valor pronóstico. Sin embargo se observó que en un subgrupo de casos con pronóstico intermedio se obtenía grados discrepantes, identificando que con el sistema POG el grado tendía a ser más alto.

En el caso de los rhabdomyosarcomas, la gradación debería establecerse de acuerdo al Intergroup Rhabdomyosarcoma Study.

POG: sistema de tres grados, que se basa en el tipo histológico tumoral como criterio fundamental para asignarlo al grado 1 o al grado 3. Para el resto de neoplasias que no pueden ser gradadas en base a su tipo histológico se valoran tanto la necrosis como el número de mitosis, quedando asignado al grado 2 ó 3.

FNCLCC: el sistema de basa en un score de puntos obtenidos como resultado de la evaluación de tres parámetros histológicos: diferenciación tumoral, número de mitosis por diez campos de gran aumento y necrosis tumoral. De cada uno de los tres ítems se obtendrá una puntuación, cuya suma total nos dará un grado histológico que va de 1 a 3.

A continuación se describen los sistemas de gradación elaborados la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre Le Cancer (FNCLCC) y por el POG.

Sistema de gradación histológica FNCLCC

Diferenciación tumoral	(ver tabla de diferenciación tumoral)
Score 1	Sarcoma que se asemeja estrechamente al tejido mesenquimal adulto normal
Score 2	Sarcomas para los que la tipificación histológica es segura
Score 3	Sarcomas sinovial, embrionario, indiferenciados, y sarcomas de tipo tumoral "dudoso"
Número de mitosis	
Score 1	0–9 mitosis por 10 CGA
Score 2	10–19 mitosis por 10 CGA
Score 3	20 o más mitosis por 10 CGA
Necrosis tumoral	(valoración microscópica)
Score 0	Ausencia de necrosis
Score 1	Menos o igual al 50% de necrosis tumoral
Score 2	Más del 50% de necrosis tumoral
Grado histológico	Puntuación total
Grado 1	2,3
Grado 2	4,5
Grado 3	6,7,8.

Score de diferenciación tumoral según el tipo histológico

Tipo histológico	Puntuación
Liposarcoma bien diferenciado	1
Leiomioma bien diferenciado	1
Fibrosarcoma bien diferenciado	1
Neurofibroma maligno	1
Liposarcoma mixoide	2
Fibrosarcoma convencional	2
Mixofibrosarcoma	2
Tumor maligno de vaina nerviosa periférica convencional	2
Angiosarcoma convencional	2
Condrosarcoma mixoide	2
Leiomioma convencional	2
Liposarcoma de célula redonda	3
Liposarcoma pleomórfico	3
Liposarcoma desdiferenciado	3
Leiomioma poco diferenciado / pleomórfico / epiteliode	3
Sarcoma sinovial	3
Rabdomiosarcoma	3
Condrosarcoma mesenquimal	3
Osteosarcoma extraesquelético	3
Sarcoma de Ewing extraesquelético	3
Tumor maligno de vaina nerviosa periférica poco diferenciado	3
Angiosarcoma poco diferenciado/epiteliode	3
Tumor rabdoide maligno	3
Sarcoma de células claras	3
Sarcoma epiteliode	3
Sarcoma alveolar de partes blandas	3
Tumor tritón maligno	3
Sarcoma indiferenciado	3

Sistema de gradación POG (Pediatric Oncology Group)

Grado 1

Se basan en el tipo histológico, la diferenciación histológica bien definida o la edad del paciente.

- Liposarcoma mixoide o bien diferenciado.
- Fibrosarcoma bien diferenciado o infantil (edad ≤ 4 años).
- Hemangiopericitoma bien diferenciado o infantil (edad ≤ 4 años).
- Tumor maligno de vaina nerviosa periférica bien diferenciado.
- Histiocitoma fibroso angiomatoide (actualmente en desuso)
- Dermatofibrosarcoma protuberans profundo (actualmente en desuso)
- Condrosarcoma mixoide.

Grado 2

Sarcomas que no se incluyen en el grado 1 o grado 3 y que tienen <5 mitosis/10 campos de gran aumento y muestran <15% de necrosis). Como criterios secundarios se establece escasa atipia nuclear y no ser muy celular.

- Necrosis tumoral inferior al 15 % del volumen tumoral.
- Número de mitosis <5 por 10 CGA.
- Atipia nuclear no marcada.
- El tumor no es marcadamente celular

Grado 3

- Liposarcoma pleomórfico o de células redondas.
- Condrosarcoma mesenquimal.
- Osteosarcoma extraesquelético.
- Tumor tritón maligno.
- Sarcoma alveolar de partes blandas.
- Sarcomas que no incluidos en el grado 1 y con >15% de necrosis o ≥ 5 mitosis por 10 CGA. Marcada atipia celular o celularidad se consideran criterios menos predictivos.

Intergroup Rhabdomyosarcoma Study grading system

Diagnóstico	Histología
Embrionario, botriode	Favorable
Embrionario, fusocelular	Favorable
Embrionario, NOS	Favorable
Alveolar, NOS o variante sólida	No Favorable
Anaplasia difusa	No Favorable
Sarcoma indiferenciado	No Favorable

Limitaciones y consideraciones en la gradación tumoral:

- La introducción de terapias neoadyuvantes en sarcomas de alto grado, requiere que en las biopsias con aguja se intente dar un grado histológico. Hemos de tener en cuenta que el material puede ser escaso y solamente representativo de la lesión y que por tanto el grado histológico será provisional y puede en ocasiones no correlacionarse al de la pieza de resección.
- El sistema de gradación es inaplicable en tumores sometidos a tratamientos prequirúrgicos (radioterapia, quimioterapia, embolización, etc.).
- En casos de recidiva tumoral, debe de darse de nuevo un grado histológico.
- No se recomienda dar grado a: Tumor maligno de vaina nerviosa periférica, rhabdomyosarcoma alveolar y embrionario, angiosarcoma, condrosarcoma mixoide extraesquelético, sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma de células claras y sarcoma epiteliode.

VIII. TOMA DE MUESTRAS PARA BIOBANCO.

Siempre que sea posible y no interfiera con el diagnóstico, se recomienda congelar fragmentos de tumor y conservarlos en el biobanco, así como tomar improntas citológicas en portaobjetos, para estudios de citogenética. La toma de muestras incuye:

- Realizar improntas o cortes de 1 cc en congelación para comprobación de la viabilidad de la muestra.
- En caso de tumor viable, tomar al menos 2 secciones de tumor. Debe emplearse material estéril e individual para cada una de las muestras tomadas.
- Tomar una muestra en "espejo" del tumor, fijándola en formol e incluyéndola en bloque de parafina.
- Congelar en criomoldes con nitrógeno líquido y preservar en arcón congelador a -80°C.
- Tomar una muestra de tejido normal

IX. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.

El diagnóstico de los sarcomas de partes blandas se basa principalmente en la morfología y en su inmunofenotipo y debería ser complementado por estudios de patología molecular.

Actualmente tanto la inmunohistoquímica como la patología molecular juegan un papel clave en el diagnóstico de los tumores de partes blandas.

En la última década se han ido desarrollando nuevos marcadores más específicos que ayudan en el abordaje diagnóstico de este tipo de tumores. Un panel básico y general para el diagnóstico de tumores de partes blandas debe incluir CKAE1/AE3, EMA, desmina, S-100 y actina de *músculo liso*. Si bien, el diagnóstico diferencial en la mayoría de los casos y sobre todo en biopsia tru-cut, vendrá marcado por el patrón morfológico que será quien marque el tipo de estudio inmunohistoquímico a realizar. Entre los nuevos marcadores inmunohistoquímicos que han surgido en los últimos años podemos destacar por su utilidad: MDM2, Cdk4, MUC4, SMARCB1 (INI1), D240, TFE3, TLE1 y STAT6 entre otros.

La evolución en la clasificación de los tumores mesenquimales ha coincidido con una época de avance molecular, detectando diferentes alteraciones genéticas específicas de determinados tipos tumorales. La demostración de estas anomalías mediante el uso de técnicas de patología molecular (FISH, PCR, etc.) sirven para confirmar o descartar determinados diagnósticos, subclassificar un tipo tumoral o darnos información pronóstica. En ciertos casos la demostración de alteraciones genéticas específicas pueden permitir el uso de terapias dirigidas (la demostración de la fusión COL1A1/PDGFB en el dermatofibrosarcoma protuberans predice la respuesta a imatinib, y la fusión de CHOP en los liposarcomas mixoides/célula redondas predice la respuesta a trabectedina). La realización de estudios de patología molecular en el *ámbito del diagnóstico debería realizarse especialmente cuando*:

- El diagnóstico histológico es dudoso
- La presentación clínica es inusual
- Cuando pueda tener relevancia pronóstica y/o predictiva

Aberraciones cromosómicas frecuentes que se observan en tumores de partes blandas

Histología	Aberración cromosómica	Genes participantes
Sarcoma alveolar de partes blandas	t(x;17)(p11.2;q25)	ASPL/TFE3
Histiocitoma fibroso angiomatoide	t(12;16)(q13;p11), t(2;22)(q33;q12), t(12;22)(q13;q12)	FUS/ATF1, EWSR1/CREB1, EWS/ATF1
Sarcoma de células claras	t(12;22)(q13;q12), t(2;22)(q33;q12)	ATF1/EWS, EWSR1/CREB1
Rabdomiosarcoma alveolar	t(1;13), t(2;13)	PAX7-FKHR, PAX3-FKHR.
Fibrosarcoma infantil	t(12;15)(p13;q25)	ETV-NTRK3
Dermatofibrosarcoma protuberans	t(17;22)(q22;q13)	COL1A1/PDGFB
Fibromatosis desmoide	Trisomía 8 o 20, pérdida de 5q21	mutaciones CTNNB1 o APC

Histología	Aberración cromosómica	Genes participantes
Tumores desmoplásicos de células redondas	t(11;22)(p13;q12)	<i>EWS/WT1</i>
Hemangioendotelioma epitelioides	t(1;3)(p36;q25) [34]	<i>WWTR1/CAMTA1</i>
Sarcoma epitelioides	Desactivación SMARCB1	<i>SMARCB1(INI1)</i>
Condrosarcoma mixoide extraesquelético	t(9;22)(q22;q12), t(9;17)(q22;q11), t(9;15)(q22;q21), t(3;9)(q11;q22)	<i>EWSR1/NR4A3, TAF2N/NR4A3, TCF12/NR4A3, TGF/NR4A3</i>
Tumor fibroso solitario	t(12;12)	<i>NAB2-STAT6</i>
Tumor miofibroblástico inflamatorio	t(1;2)(q23;q23), t(2;19)(q23;q13), t(2;17)(q23;q23), t(2;2)(p23;q13), t(2;11)(p23;p15) [35]	<i>TPM3/ALK, TPM4/ALK, CLTC/ALK, RANBP2/ALK, CARS/ALK</i>
Sarcoma fibromixoides de grado bajo	t(7;16)(q33;p11), t(11;16)(p11;p11)	<i>FUS/CREB3L2, FUS/CREB3L1</i>
Tumor maligno de vaina nerviosa periférica	17q11.2, pérdida o reordenamiento 10p, 11q, 17q, 22q	<i>NF1</i>
Liposarcoma mixoide/de células redondas	t(12;16)(q13;p11), t(12;22)(q13;q12)	<i>FUS/DD1T3, EWSR/DD1T3</i>
Tumor rabdoide	Delección de 22q	<i>Inactivación de INI1</i>
Sarcoma sinovial	t(x;18)(p11;q11)	<i>SS18-SSX1/SSX2/SSX4</i>
Quiste óseo aneurismático	t(16;17)(q22;p13)	<i>CDH11-USP6</i>

X. ESTADIAJE.

Se recomienda el Sistema de estadificación AJCC TNM, 7ª edición, 2010 (ver anexo 1). Para el estadiaje de Rbdomiosarcoma se sugiere The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Postsurgical Clinical Grouping System (anexo 2)

XI. PROTOCOLO SISTEMATIZADO EN TUMORES DE PARTES BLANDAS: REQUERIMIENTOS PARA EL INFORME PATOLÓGICO.

A.- INFORMACIÓN CLÍNICA Y QUIRÚRGICA:

- Datos del paciente, historia familiar, síndromes asociados, etc.
- Cirujano, clínico, oncólogo o radiólogo responsable.
- Tipo de procedimiento quirúrgico.
- Diagnóstico clínico-radiológico de sospecha.
- Localización anatómica de la muestra y lateralidad.
- Si se ha realizado tratamiento neoadyuvante.
- Tener acceso a pruebas de imagen.

B.- ESTUDIO MACROSCÓPICO:

- Orientación e identificación de márgenes
- Tamaño en tres dimensiones y peso

- Fotografía macroscópica sobre fondo métrico: antes de manipular la pieza y tras la sección
- Teñir márgenes: si la pieza es pequeña tinción completa. En caso de piezas de resección de gran tamaño se realizará una tinción selectiva de los planos más próximos.
- Secciones en paralelo según el eje que mayor información nos proporcione. Para valorar márgenes realizar cortes perpendiculares.
- Evaluación del tumor:
 - medida tumoral en tres dimensiones
 - descripción de aspecto, color, consistencia, presencia de tejido adiposo, áreas mixoides, hemorragia, porcentaje de necrosis, quistes, calcificación, osificación, cartílago, etc.
 - distancias a todos los márgenes de resección, especificando los que están a menos de 2 cm.
 - Identificación de trayecto de biopsia previa
 - Ganglios linfáticos: número y localización. Especialmente en subtipos con tendencia a diseminarse vía linfática como el sarcoma epiteliode y el sarcoma sinovial
 - Nódulos satélites: localización y distancia a tumor principal

Inclusión: Debe realizarse un muestreo adecuado. En general se recomienda una sección de diferentes áreas por cada centímetro de tumor hasta un máximo de 10-12 bloques. Se incluirá un bloque que incluya zona de necrosis en transición. No deben evitarse áreas de tejido adiposo maduro ya que pueden corresponder al componente lipomatoso de liposarcomas desdiferenciados. Las secciones correspondientes a los márgenes deben tomarse perpendicularmente a ellos. Si un margen se encuentra a más de 5 cm no es necesario incluirlo, excepto si se trata de un sarcoma epiteliode o de un angiosarcoma, por su potencial multicéntrico.

En aquellos casos en que los que se recibe la piel, que incluye la cicatriz de la biopsia tru-cut previa, la inclusión será en totalidad previa seriación y marcando los planos con tinta china.

C.- ESTUDIO MICROSCÓPICO E INFORME PATOLÓGICO:

En el informe anatomopatológico de una biopsia tru-cut de un sarcoma deben constar: el tipo histológico (cuando esto no es posible puede ser útil intentar clasificarlos según su patrón morfológico) grado histológico, inmunofenotipo y el resultado de las pruebas moleculares si se han llevado a cabo.

Parámetros mínimos sugeridos en el informe anatomo-patológico (piezas de resección):

- Localización y tipo de procedimiento quirúrgico
- Tipo histológico (OMS 2013)
- Grado histológico (FNCLCC)
- Tamaño y profundidad del tumor
- Extensión (tejidos blandos, piel, hueso, etc.)
- Márgenes de resección (distancia y localización cuando sea menos a 2 cm)
- Naturaleza del tejido que constituye el margen (músculo, fascia, etc.)
- Presencia o no de permeación vascular
- Número y estado de ganglios linfáticos (si procede).
- Resultado de estudios complementarios: inmunohistoquímica y patología molecular.

XII. NEOADYUVANCIA.

A pesar del óptimo tratamiento local, en las últimas décadas se han realizado varios ensayos de quimioterapia adyuvante para sarcomas de partes blandas en adultos. Basándose en el grado histológico y en el histotipo tumoral existen actualmente ensayos clínicos que intentan comparar el efecto en la supervivencia libre de enfermedad de la quimioterapia estándar a dosis plenas con la quimioterapia "tipo histológico-dirigida". En estos casos el patólogo juega un papel importante, tanto en el diagnóstico de la biopsia, seleccionando a aquellos pacientes subsidiarios de tratamiento neoadyuvante, como en la evaluación macro-microscópica de la respuesta patológica.

Manejo y evaluación patológica de la pieza quirúrgica post-neoadyuvancia. Valoración de la respuesta patológica.

- A. **Correlación entre la respuesta radiológica y patológica:** Antes de realizar el tallado de la pieza, reconocer los hallazgos de las pruebas de imagen y establecer comparativas respecto a las imágenes previas al tratamiento neoadyuvante. Con el fin de identificar áreas de especial interés.
- B. **Orientación** de la pieza para identificar los diferentes márgenes de resección (deben venir identificados desde quirófano).
- C. **Fotografía** macroscópica (antes y después del corte)
- D. **Medida** de la pieza en tres dimensiones. Especificar si incluye piel correspondiente al área de biopsia previa. Tipo de procedimiento.
- E. **Secciones de la pieza:** Lo ideal es hacer una correlación con las pruebas de imagen y así realizar cortes en el eje que mayor información nos proporcione.
- F. **Descripción macroscópica del tumor.** Tamaño en tres dimensiones, presencia o no de cápsula, presencia o no de componente adiposo, color y consistencia. Estimación macroscópica del porcentaje de necrosis.
- G. **Márgenes de resección:** Identificar márgenes más cercanos, teñir los que quedan a menos de 2 cm. Especificar el tejido que queda entre el tumor y el margen (musculo, fascia, periostio, etc.)
- H. **Inclusión (mapeo):** realizar un "mapeo histológico" de una sección completa y representativa del tumor, de forma semejante a la que se realiza en los sarcomas de Ewing y osteosarcomas tratados con quimioterapia neoadyuvante. No evitar las zonas necróticas. Se recomienda un bloque para cada 1 cm de tumor. Facilita el trabajo realizar una fotografía macroscópica de la sección tumoral y marcar e identificar en ella el número y orden de bloques incluidos.
- I. **Porcentaje de necrosis:** valoración microscópica del **porcentaje de necrosis**, que incluye cambios como esclerosis, hialinización, degeneración mixoide, inflamación crónica, tejido de granulación, reacción macrofágica, hemorragia, quistificación, etc.).
- J. **Porcentaje de tumor viable** (volumen tumoral viable), especificando su distribución y localización en el tumor basándonos en el mapeo marcado sobre la fotografía.

Anexo 1. Sistema de estadificación AJCC TNM 7ª edición, 2010.**Tumor primario (pT)**

- pTX:** Tumor primario no puede ser medido
- pT0:** Sin evidencia de tumor primario
- pT1a:** Tumor superficial de 5 cm o menos de máxima dimensión.
- pT1b:** Tumor profundo de 5 cm o menos de máxima dimensión.
- pT2a:** Tumor superficial de más de 5 cm dimensión.
- pT2b:** Tumor profundo de más de 5 cm de máxima dimensión.

Ganglios linfáticos regionales (pN)

- pNX:** no pueden ser estudiados
- pN0:** Ausencia de metástasis
- pN1:** metástasis en ganglios regionales

Metástasis a distancia (pM)

- pMx:** no aplicable
- pM1:** metástasis a distancia

Estadio anatómico / grupos pronóstico.

ESTADIO	GRADO HISTOLÓGICO	TUMOR PRIMARIO	GANGLIOS LINFÁTICOS	METÁSTASIS
ESTADIO IA	G1, GX G1, GX	T1a T1b	N0 N0	M0 M0
ESTADIO IB	G1, GX G1, GX	T2a T2b	N0 N0	M0 M0
ESTADIO IIA	G2, G3 G2, G3	T1a T1b	N0 N0	M0 M0
ESTADIO IIB	G2 G2	T2a T2b	N0 N0	M0 M0
ESTADIO III	G3 G3 Cualquier G	T2a T2b Cualquier T	N0 N0 N1	M0 M0 M0
ESTADIO IV	Cualquier G	Cualquier T	Cualquier n	M1

Anexo 2. The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Postsurgical Clinical Grouping System.**Grupo I**

- A** Tumor localizado y completamente resecado, confinado a su sitio de origen.
- B** Tumor localizado y completamente resecado con extensión más allá de su origen.

Grupo II

- A** Tumor localizado, resección macroscópica completa pero con enfermedad residual microscópica (margen positivo)
- B** Tumor localmente avanzado (metástasis a ganglios linfáticos regionales), con resección completa (margen negativo)
- C** Tumor localmente avanzado (metástasis a ganglios linfáticos) con resección macroscópica total pero con enfermedad residual microscópica (margen positivo)

Grupo III

Enfermedad residual macroscópica (incluyendo ganglios linfáticos)

Grupo IV

Metástasis a distancia.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Association of directors of anatomic and surgical pathology. Recommendations for the reporting of soft tissue sarcoma. Mod Pathol 1998; 11: 1257-1261.
2. The ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology 25 (Supplement 3): iii102–iii112, 2014

3. Julia A Bridge. The role of cytogenetics and molecular diagnostics in the diagnosis of soft-tissue tumors. *Modern Pathology* (2014) 27, S80–S97
4. R. Beverly Raney, Harold M. Maurer, James R. Anderson, et al. The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group (IRSG): major lessons from the IRS-I through IRS-IV studies as background for the current IRS-V treatment protocols. *Sarcoma* (2001) 5, 9-15.
5. Jason L Hornick. Novel uses of immunohistochemistry in the diagnosis and classification of soft tissue tumors. *Modern Pathology* (2014) 27, S47–S63.
6. Joseph D. Khoury, M.D., Cheryl M. Coffin, M.D, Sheri L. Spunt, M.D. Grading of Non-Rhabdomyosarcoma Soft Tissue Sarcoma in Children and Adolescents: A Comparison of Parameters Used for the FNCLCC and POG systems. *Cancer*. 2010 May 1; 116(9): 2266–2274.
7. Brian P. Rubin, MD, PhD; Kumarasen Cooper, MBChB; Christopher D. M. Fletcher, et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Tumors of Soft Tissue. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 134, April 2010.
8. David M. Parham, M.D. Pathologic Classification of Rhabdomyosarcomas and Correlations with Molecular Studies. *Mod Pathol* 2001;14(5):506–514.
9. Christopher D.M Fletcher, Julia A. Bridge, Pancras C.W Hogendoorn , Frederik Mertens, WHO classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lion. France; IARC press 2013. World Health Organization Classification of Tumours.

Guía práctica para el diagnóstico de Tumores Óseos en Edad Pediátrica

Daniel Azorín.

Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid

I. INTRODUCCIÓN

Los tumores óseos en la edad pediátrica son muy comunes, hasta el punto de que existen dos picos de incidencia de los sarcomas óseos; uno en la segunda década de la vida y el otro en mayores de 60 años, siendo más frecuentes en números absolutos en la segunda década. Sin embargo, afortunadamente, la mayoría de las lesiones óseas en la edad pediátrica son benignas.

A la hora de enfrentarnos al diagnóstico de una lesión ósea, debemos hacer una aproximación multidisciplinar, teniendo muy en cuenta los aspectos clínicos y radiológicos del paciente. Esto es importante en todas las subespecialidades de la Anatomía Patológica, pero quizá esta importancia se acentúa en el estudio de los tumores óseos. De hecho, se ha estimado que hasta el 85% de las lesiones óseas pueden ser diagnosticadas con seguridad antes de mirar la histología. Por ello, aunque es esencial una comunicación fluida con un radiólogo, preferiblemente experto en músculo-esqueleto, el patólogo debe tener unas mínimas nociones de radiología simple que le permitan enfocar el caso con mayor seguridad, ya que las imágenes radiológicas son la macroscopía del tumor, debido a que muchas veces el material del que vamos a disponer es un cilindro de tejido o fragmentos procedentes de un curetaje. Sin embargo, el patólogo no debe perderse en el mar de imágenes que constituyen un estudio radiológico completo de una lesión ósea. De hecho, con una "simple" radiografía es más que suficiente para poder orientar la lesión; la resonancia magnética ofrece poca información sobre la naturaleza de la lesión y más sobre la extensión de la misma y el TAC no aporta mucho más que la radiografía simple.

Teniendo en cuenta estos aspectos, vamos a enumerar los datos clínico-radiológicos más útiles a la hora de enfrentarnos al diagnóstico de una lesión ósea en un paciente pediátrico (aunque la mayoría valen igualmente para cualquier paciente, en cualquier rango de edad):

EDAD:

La mayoría de las lesiones óseas ocurren en la segunda década de la vida y aunque la mayoría son benignas, siempre hay que tener en cuenta al osteosarcoma y al sarcoma de Ewing. Sin embargo, en pacientes menores de 5 años, estos tumores son infrecuentes, debiendo incluir en el diagnóstico diferencial el linfoma/leucemia linfoblástica, la histiocitosis de células de Langerhans y las metástasis de neuroblastoma.

AGRESIVIDAD RADIOLÓGICA:

Desde el punto de vista radiológico, existen una serie de parámetros indicativos de agresividad, aunque no siempre se correlaciona con el comportamiento de la lesión, ya que existen lesiones benignas radio-

lógicamente agresivas (osteomielitis) y algunas lesiones malignas pueden no ser agresivas al inicio. Estos parámetros son:

1. **Delimitación:** Una lesión bien definida y con un anillo esclerótico indica poca agresividad, mientras que una lesión mal definida suele indicar un patrón permeativo y, por tanto, agresivo.
2. **Destrucción cortical:** la destrucción de la cortical, sobre todo si se acompaña de invasión de las partes blandas, indica agresividad, aunque existen tumores como el quiste óseo aneurismático o el osteoblastoma, que pueden invadir las partes blandas siendo benignos (sobre todo cuando se localizan en arco posterior de las vértebras).
3. **Reacción perióstica:** Una reacción perióstica en capas de cebolla, en sol naciente o la presencia de un triángulo de Codman son indicativos de agresividad.

LOCALIZACIÓN:

1. **Epífisis:** Condrosarcoma (en pacientes esqueléticamente maduros, hay que tomar en consideración el tumor de células gigantes)
2. **Metáfisis:**
 - a) Lesión agresiva: Osteosarcoma
 - b) Lesión no agresiva: Defecto fibroso metafisario/Fibroma no osificante, Quiste óseo aneurismático, Quiste óseo simple, Displasia fibrosa, Osteoblastoma, Osteoma osteoide.
3. **Diáfisis:**
 - a) Lesión agresiva: Sarcoma de Ewing
 - b) Lesión no agresiva: Encondroma

II. DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO:

Una vez valorados estos aspectos clínico-radiológicos, estaremos preparados para enfrentarnos al examen histopatológico de la lesión y realizar un diagnóstico conforme a la Clasificación de tumores óseos de la O.M.S. (Debe tenerse en cuenta que esta guía no pretende ser un tratado de tumores óseos sino dar algunas pinceladas desde el punto de vista práctico para realizar un adecuado diagnóstico diferencial)

II.1. TUMORES FORMADORES DE HUESO:

OSTEOMA OSTEOIDE:

Claves clínico-radiológicas:

Huesos largos; tamaño menor de 2 cm; presencia de nidus

Claves histológicas:

Trabéculas de osteoide anastomosadas; ausencia de atipia

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Osteoblastoma: tamaño mayor de 2 cm

OSTEOBLASTOMA:

Claves clínico-radiológicas:

Arcos posteriores vertebrales; tamaño mayor de 2 cm

Claves histológicas:

Trabéculas de osteoide anastomosadas; ausencia de atipia; límite neto con el hueso periférico

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Osteosarcoma simulador de osteoblastoma: infiltra el hueso periférico

OSTEOSARCOMA CONVENCIONAL:

Claves clínico-radiológicas:

Metáfisis de huesos largos; lesión endomedular agresiva, con infiltración de partes blandas y triángulo de Codman

Claves histológicas:

Cualquier tumor maligno que produzca osteoide. A veces el osteoide es mínimo y es difícil de diferenciar del colágeno, para lo que puede ayudar un tricrómico de Masson (el osteoide tiñe más intenso y homogéneo, mientras que el colágeno es más fibrilar).

Patrones variados (osteoblástico, condroblástico, fibroblástico).

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada. Hasta el momento, no existen marcadores diagnósticos, predictivos o dianas terapéuticas.

Diagnóstico diferencial:

Condrosarcoma: Pensar en osteosarcoma ante un tumor maligno con diferenciación condral (virtualmente, no existen condrosarcomas en niños)

Otros sarcomas (fibrosarcoma, sarcoma pleomórfico...): El osteosarcoma es el tumor maligno primario de hueso más frecuente en edad pediátrica, por lo que se debe descartar siempre y buscar osteoide

OSTEOSARCOMA DE CÉLULAS PEQUEÑAS:

Claves clínico-radiológicas:

Imagen y rango de edad similar al osteosarcoma convencional

Claves histológicas:

Tumor de células redondas, con formación focal de osteoide

Técnicas IHQ y/o moleculares:

CD99+, FLI1-

Diagnóstico diferencial:

Sarcoma de Ewing: Localización diafisaria frente a la localización metafisaria del osteosarcoma; no forma osteoide; CD99+ y FLI1+ (hasta el 90% de los casos); Fusión EWS-FLI1 (detectable por PCR o FISH).

OSTEOSARCOMA TELANGIECTÁSICO:

Claves clínico-radiológicas:

Imagen similar al quiste óseo aneurismático; frecuente invasión de partes blandas

Claves histológicas:

Puede simular un quiste óseo aneurismático

Formación de osteoide mínima, a veces ausente

Anaplasia

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Quiste óseo aneurismático: Aunque puede tener mitosis y formar osteoide, hay ausencia de anaplasia

OSTEOSARCOMAS DE LA SUPERFICIE DEL HUESO:

Claves clínico-radiológicas:

Más frecuentes en tercera década. Afectan a la superficie del hueso; la cavidad medular está respetada. El Osteosarcoma perióstico suele ser diafisario

Claves histológicas:

Existen tres tipos, que van de menor a mayor grado histológico: osteosarcoma parostal, osteosarcoma perióstico y osteosarcoma de alto grado de la superficie del hueso. El parostal está constituido por trabéculas de hueso con mínima atipia, con un revestimiento condral; el perióstico un osteosarcoma de predominio condroblástico y el de alto grado igual al convencional intramedular.

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Osteocondroma (vs Osteosarcoma parostal): los espacios intertrabeculares en el osteocondroma están ocupados por médula adiposa o hematopoyética, mientras que en el osteosarcoma hay un estroma neoplásico con leve atipia. Además, radiológicamente, el osteocondroma presenta continuidad con la cortical del hueso nativo y en el osteosarcoma existe una masa mineralizada unida a dicha cortical.

II.2. TUMORES FORMADORES DE CARTÍLAGO:

OSTEOCONDROMA:

Claves clínico-radiológicas:

Es el tumor óseo benigno más frecuente en la edad pediátrica. Consiste en una lesión excrecente del hueso con continuidad cortical-cortical y medular-medular

Claves histológicas:

Tejido óseo maduro recubierto en uno de sus extremos por cartílago hialino que imita al cartílago de crecimiento. Médula ósea hematopoyética o adiposa entre las trabéculas

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial: Osteosarcoma parostal

ENCONDROMA:

Claves clínico-radiológicas:

Huesos cortos de las manos y los pies; localización intramedular y, aunque erosiona la cortical desde dentro, nunca la rompe

Claves histológicas:

Nidos hipocelulares de cartílago hialino. En los huesos de los dedos pueden verse binucleaciones y aumento de la celularidad. Aunque puede haber erosión del hueso, no se observa permeación de los canales de Havers, atrapamiento de trabéculas óseas ni invasión de tejidos blandos (criterios de malignidad)

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Condrosarcoma de bajo grado: muy infrecuente en edad pediátrica

CONDROSARCOMA:

Virtualmente, no existen condrosarcomas en edad pediátrica (aunque evidentemente hay casos descritos y no debe excluirse por completo). Ante un tumor maligno con diferenciación condral en un paciente pediátrico hay que pensar siempre en un osteosarcoma de predominio condroblástico.

CONDRBLASTOMA:

Claves clínico-radiológicas:

Lesión lítica en la epífisis de los huesos largos

Claves histológicas:

Proliferación uniforme de células poligonales, de citoplasmas bien definidos y núcleos frecuentemente hendidos. Se observa formación de matriz condroide eosinófila y calcificación fina pericelular que ofrece un patrón característico en malla de alambre ("chicken-wire"). Hasta un tercio de los casos asocian quiste aneurismático.

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Osteosarcoma: lesión metafisaria agresiva; pleomorfismo

FIBROMA CONDRMIXOIDE:

Claves clínico-radiológicas:

Imagen lítica inespecífica

Claves histológicas:

Lóbulos de células fusiformes en la periferia y células estrelladas en el centro, en el seno de una matriz fibromixoide. Característicamente la porción externa de los lóbulos es más celular que el centro de los mismos

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial:

Condrosarcoma: contexto clínico-radiológico

CONDROSARCOMA MESENQUIMAL:

Claves clínico-radiológicas:

Cráneo, costillas, vértebras y pelvis. Lesión lítica agresiva con mineralización variable

Claves histológicas:

Tumor de células redondas junto a islotes de cartílago hialino bien diferenciado

Técnicas IHQ y/o moleculares:

CD99+, FLI1-, SOX9+

Fusión HEY1-NCOA2 entre los cromosomas 13 y 21

Diagnóstico diferencial:

Sarcoma de Ewing: FLI1+ (hasta el 90% de los casos); Fusión EWS-FLI1 (detectable por PCR o FISH).

II.3. TUMORES DE CÉLULAS REDONDAS: SARCOMA DE EWING

Claves clínico-radiológicas:

Segundo tumor maligno primario de hueso más frecuente en edad pediátrica.

Debe sospecharse ante cualquier lesión diafisaria con signos de agresividad en un paciente pediátrico, debiendo tenerse en cuenta que puede simular clínica y radiológicamente una osteomielitis, con presencia de fiebre y leucocitosis.

Claves histológicas:

Tumor de células redondas con escaso citoplasma PAS positivo y núcleos ovoideos de cromatina fina

Existe un amplio abanico de variantes morfológicas, incluidas dentro de los Sarcomas de Ewing Atípicos y variantes con diferenciación neuroectodérmica y formación de rosetas, antiguamente denominados PNET. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha demostrado significación pronóstica según el tipo

Técnicas IHQ y/o moleculares:

CD99+, FLI1+

El 85% de los casos presentan una traslocación t(11;22) que genera la proteína de fusión EWS-FLI1 y el 10% presenta la traslocación t(21;22) que genera la proteína EWS-ERG. Por tanto, se puede realizar el diagnóstico en la mayoría de los casos determinando por PCR cualquiera de las dos traslocaciones mayoritarias o por FISH el reordenamiento del gen EWS (aunque debe tenerse en cuenta el contexto clínico-radiológico, ya que dicho reordenamiento se encuentra presente en otros tumores)

Diagnóstico diferencial:

Leucemia/linfoma linfoblástico: Menores de 5 años. Puede ser CD99+ y CD45-, por lo que debe incluirse siempre Tdt, que será positivo en las leucemias y negativo en el Sarcoma de Ewing.

Metástasis de neuroblastoma: Menores de 5 años. CD99-, NB84+

II.4. OTROS TUMORES Y LESIONES PSEUDOTUMORALES:

QUISTES ÓSEOS:

Claves clínico-radiológicas:

Niveles líquido-líquido en el quiste óseo aneurismático

Claves histológicas:

Tabiques con formación de osteoide. Mayor celularidad en el quiste aneurismático

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial: Osteosarcoma telangiectásico.

DISPLASIA FIBROSA Y DISPLASIA OSTEOFIBROSA:

Claves clínico-radiológicas:

DF: Lesión endomedular que puede afectar a cualquier hueso

DOF: Lesión intracortical con afectación casi exclusiva de la tibia. Produce incurvación.

Técnicas IHQ y/o moleculares:

CKAE1AE3 en DOF

Diagnóstico diferencial:

Adamantinoma (vs DOF): presencia de nidos de células AE1AE3 positivas

FIBROMA NO OSIFICANTE/DEFECTO FIBROSO CORTICAL/FIBROHISTIOCITOMA BENIGNO:

Claves clínico-radiológicas:

Se denomina defecto fibroso cortical cuando se trata de una lesión lítica metafisaria cortical en un paciente pediátrico; fibroma no osificante se refiere a una lesión más extensa, que afecta también a la cavidad medular; se denomina fibrohistiocitoma benigno cuando afecta a pacientes adultos y en localizaciones distintas a la metafisis de huesos largos

Claves histológicas:

Proliferación estoriforme de fibroblastos, histiocitos espumosos y células gigantes de tipo osteoclasto, en distinta proporción.

Técnicas IHQ y/o moleculares: No aportan nada

Diagnóstico diferencial: No se plantea

HISTIOCITOSIS DE CÉLULAS DE LANGERHANS:

Claves clínico-radiológicas:

Puede afectar a cualquier hueso, aunque tiene preferencia por el cráneo. Puede afectar a uno o múltiples huesos, e incluso puede ser multiorgánica (sobre todo en menores de 2 años), con una alta mortalidad

Claves histológicas:

Identificar las células de Langerhans, que son de tamaño intermedio, con citoplasmas eosinófilos y núcleos frecuentemente hendidos "en grano de café". Estas células se acompañan de un infiltrado variable de eosinófilos, linfocitos, plasmáticas y neutrófilos

Técnicas IHQ y/o moleculares:

S100, CD1a y Langerina (CD207) positivos.

Diagnóstico diferencial:

Osteomielitis: descartar una histiocitosis ante cualquier lesión de aspecto inflamatorio en un paciente pediátrico

III. MANEJO DE LAS MUESTRAS:

BIOPSIA POR TRÓCAR:

Es el tipo de muestra con el que más frecuentemente nos vamos a encontrar. Es aconsejable que todas las muestras se reciban en fresco, ya que ello nos permitirá congelar material para estudios moleculares, hacer improntas, seleccionar tejido para estudio ultraestructural, etc. Tras la selección del tejido para dichos estudios complementarios, procederemos a su fijación en formol durante 24 horas, para posteriormente descalcificarlo en medios no muy agresivos, como el fórmico, durante una o dos horas, según el grosor de la biopsia.

El estudio tras la inclusión en parafina se va a realizar en la mayoría de los casos con una hematoxilina-eosina, reservando la IHQ para los tumores de células redondas, la histiocitosis de células de Langerhans y las lesiones fibro-ósneas, como se ha comentado ya.

El estudio molecular (por PCR o FISH) se reserva únicamente para los tumores de células redondas en los que se plantee diagnóstico diferencial con Sarcoma de Ewing o con Condrosarcoma mesenquimal. Hasta el momento, no existe ningún marcador molecular que sirva para predecir el pronóstico, o como diana terapéutica, en los tumores óseos.

PIEZAS DE RESECCIÓN:

Las piezas pequeñas de resección de tumores benignos o biopsias abiertas o por curetaje, se manejan de un modo similar a las biopsias por trócar, siendo necesario en algunos casos realizar secciones de la pieza con una sierra para su adecuada fijación.

Las piezas de resección postquimioterapia de los sarcomas óseos requieren un manejo diferente, ya que es imprescindible la valoración de la respuesta del tumor a la quimioterapia, siendo ésta de valor pronóstico tanto en el Sarcoma de Ewing como en el Osteosarcoma. En estos casos, realizaremos secciones paralelas al eje mayor longitudinal de la pieza, dejándolo fijar 24 horas. Tras su descalcificación (preferiblemente en fórmico, o primero fórmico y luego ácido nítrico, de manera que pase el mínimo tiempo posible en éste último), es necesario incluir al menos una de las secciones longitudinales enteras (o dos, preferiblemente) en bloques de aproximadamente 2 centímetros cuadrados cada uno, identificando sobre una fotografía o una fotocopia de la pieza seccionada la localización de cada uno. En el examen histológico, valoraremos el porcentaje de respuesta a la quimioterapia (fibrosis, necrosis, macrófagos...) en cada bloque, realizando una media con el total de bloques examinados. Existen distintos protocolos para la valoración de dicha respuesta, aunque el CAP recomienda dar el porcentaje de respuesta a la quimioterapia en cualquier caso, considerándose una respuesta adecuada aquella que supere el 90% de necrosis, tanto en Osteosarcoma como en Sarcoma de Ewing.

IV. INFORME ANATOMOPATOLÓGICO:

El CAP elabora regularmente unos protocolos para la realización de informes anatomopatológicos que son por supuesto aplicables para los tumores en edad pediátrica. Resumiremos los aspectos más importantes a destacar en el informe anatomopatológico.

BIOPSIAS:

Debe especificarse el procedimiento (trócar, curetaje, etc), la localización de la lesión y, brevemente, pueden especificarse sus características radiológicas (lítica, agresiva o no agresiva, etc). El diagnóstico debe incluir el tipo histológico según la clasificación de la O.M.S.

Ejemplo: Biopsia por trócar de lesión lítica agresiva en metáfisis proximal de fémur derecho con Osteosarcoma convencional de predominio osteoblástico en el material examinado.

RESECCIÓN:

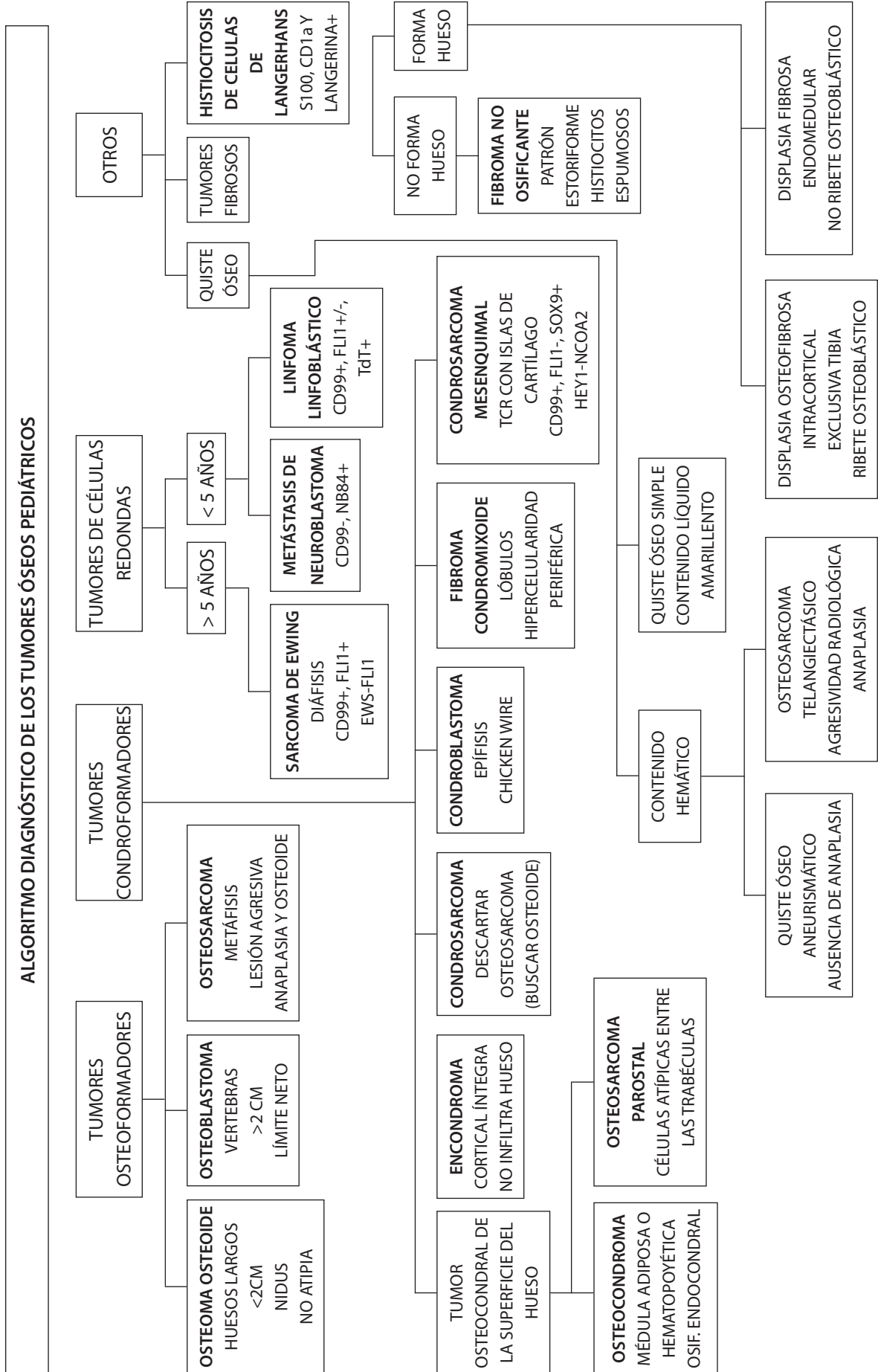
Debe indicarse si se trata de una resección postquimioterapia o no. Al igual que en la biopsia, se indicará la localización de la lesión, las características radiológicas y el tamaño de la misma. El diagnóstico debe incluir, además del tipo histológico, el porcentaje de necrosis postquimioterapia (si hubo tratamiento previo), el estado de los márgenes quirúrgicos (afectación o no y distancia), si se realizó linfadenectomía, el estado de los ganglios linfáticos y el estadiaje TNM.

Ejemplo: Pieza de resección postquimioterapia de Sarcoma de Ewing de 3 cm de diámetro en metáfisis distal de tibia izquierda con 95% de necrosis postquimioterapia. Margenes quirúrgicos libres de infiltración neoplásica. ypT1NxMx

BIBLIOGRAFÍA:

1. Fletcher, CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F, eds. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. IARC: Lyon 2013

2. Unni KK, Inwards CY, Bridge JA, Kindblom L, Wold LE, eds. AFIP Atlas of tumor pathology. Fourth series. Fascicle 2. Tumors of the bones and joints. ARP: Washington 2005
3. DeYoung BR. Diagnosing bone lesions: A practical non-pathology centric formulaic approach. Semin Diagn Pathol 2014; 31: 1-9
4. Vlychou M, Athanasou. Radiological and pathological diagnosis of pediatric bone tumours and tumour-like lesions. Pathology 2008; 40: 196-216



RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA PULMONAR DE LA SEAP

Introducción

Clara Salas, coordinadora del club

Correspondencia: clara.salas@salud.madrid.org

El cáncer de pulmón constituye la principal causa de muerte por cáncer en todo el mundo. Actualmente, la resección quirúrgica con intención curativa es el tratamiento de elección, sin embargo, la gran mayoría de los casos se presentan en etapas avanzadas de la enfermedad, por lo que la única opción terapéutica disponible es la terapia médica. El pronóstico general de los pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón es malo, con una supervivencia global a los cinco años inferior al 15%. Esto se debe a unos métodos poco eficaces para la detección precoz y a la falta de un tratamiento curativo para la enfermedad avanzada.

En los últimos años estamos asistiendo a un rápido desarrollo de técnicas de biología molecular para el estudio del cáncer de pulmón, y nuestra comprensión y apreciación de la complejidad de la biología del tumor se ha incrementado de manera exponencial. Está bien establecido que estas neoplasias son el resultado de múltiples combinaciones complejas de alteraciones morfológicas, moleculares y genéticas, que conducen a una masa de células malignas con los diferentes fenotipos de cáncer.

La mejora de los resultados en los pacientes, producto de estos avances, requiere una planificación multidisciplinar del diagnóstico y del tratamiento y ha aumentado de manera significativa el papel del patólogo quirúrgico. Éste, no sólo debe confirmar el diagnóstico de malignidad, sino definir con precisión el subtipo del tumor en función de su histología, así como indicar su perfil molecular. Debido a que en la mayoría de casos, el diagnóstico se realiza en biopsias pequeñas o muestras de citología, obtenidas a su vez por procedimientos cada vez más sofisticados, el patólogo debe obtener el máximo rendimiento diagnóstico en el escaso material disponible.

La clasificación, aun en vigor, de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2004) se aplica a los tumores malignos resecaados quirúrgicamente. La más reciente revisión de 2011 para el adenocarcinoma por la IASLC / ATS / ERS, integra la patogenia, criterios histológicos y comportamiento clínico, y aporta parámetros para una mayor precisión en el diagnóstico del cáncer de pulmón en biopsias pequeñas y muestras de citología.

Ya conocemos que se está preparando la nueva clasificación OMS para ser publicada en 2015, y aunque muchas de sus novedades están ya reflejadas en el documento que exponemos a continuación, nos hemos ceñido a lo que está contrastado en la literatura actual, sabiendo que como tantas veces en Medicina y de manera importante en nuestra especialidad, estamos ya obsoletos, pero comprometidos a actualizarla.

Sobre estas premisas, esperamos que sea de vuestro interés y de ayuda en algún caso.

Recomendaciones para el estudio del Cáncer de Pulmón

Consenso del Club de Pulmón de la Sociedad Española de Anatomía Patológica

Aranda F. Ignacio, Conde Esther, Gómez-Román Javier, López-Ríos Fernando, Lozano María Dolores, Martín Luz, Plaza M^a Luz, Saiz Mónica, Salas Clara, Toro Paula.

I. INTRODUCCIÓN

La metodología que hemos seguido ha consistido en una reunión presencial preliminar del grupo, para discutir los puntos considerados de mayor interés y después elaborar el siguiente documento de consenso: Hemos intentado cubrir los principales aspectos del diagnóstico del carcinoma pulmonar, en las citologías, las biopsias y en piezas quirúrgicas. Se emiten las recomendaciones relativas al papel de la PAAF en el cáncer de pulmón, el estudio macroscópico de las piezas, protocolo de actuación en la biopsia intraoperatoria, marcadores inmunohistoquímicos y moleculares de mayor utilidad, tanto para el diagnóstico como en la predicción de respuesta al tratamiento, y el manejo de piezas de resección tras la neoadyuvancia. Finalmente, se aporta un modelo de informe anatomopatológico que incluye datos imprescindibles y recomendados para el informe de piezas quirúrgicas.

II. PAAF EN PULMÓN: MÉTODOS DE ABORDAJE Y MANEJO DE MUESTRAS PARA ESTUDIOS MOLECULARES

M^a Dolores Lozano, Clínica Universitaria de Navarra.

Técnicas de abordaje

1. *PAAF transtorácica bajo control de TAC*: Técnica de punción más utilizada en lesiones periféricas. Permite la obtención directa de muestras citológicas y/o pequeñas biopsias de pulmón de forma percutánea a través del tórax y bajo control de TAC. En manos de un radiólogo experimentado con el patólogo presente durante la exploración tiene un rendimiento diagnóstico muy alto. Las complicaciones más frecuentes, que limitan su uso, son el desarrollo de neumotórax y la hemorragia pulmonar (1).
2. *PAAF transbronquial y broncoscopia*: La punción transbronquial (PTB) se ha consolidado como una técnica extremadamente útil en el abordaje diagnóstico del mediastino y de lesiones endobronquiales accesibles al broncoscopio. Las indicaciones principales de esta técnica incluyen el diagnóstico de adenopatías mediastínicas, patología submucosa, afectación endobronquial e incluso nódulos pulmonares periféricos. Este abanico de posibilidades da una idea de la versatilidad de la técnica (2). La rentabilidad diagnóstica de la PTB es muy alta, sobre todo en el caso de afectación neoplásica de la región subcarinal o paratraqueal derecha.

- a) Una variación de esta técnica, ya en aplicación en algunos centros, es el uso de *navegación electromagnética con PAAF transbronquial*, aumenta significativamente la rentabilidad diagnóstica de la broncoscopia en el abordaje de nódulos pulmonares periféricos, siendo muy útil en el diagnóstico de nódulos pulmonares de difícil abordaje en pacientes con alto riesgo quirúrgico (3, 4). Esta técnica se basa en tres pilares: (A) Planificación virtual previa mediante TAC, (B) Navegación empleando conceptos de GPS y (C) Una sonda electromagnética dirigible que permite navegar en tiempo real hasta una lesión alejada y biopsiarla utilizando una pinza o una aguja de punción citológica.
- b) Otra variante es la *Ultrasonografía endobronquial (EBUS)*, similar a la ultrasonografía endoscópica. Permite la visualización a tiempo real de los ganglios a estudio. Combina la broncoscopia tradicional con la ecografía, de forma que permite obtener imágenes ecográficas de las estructuras que se encuentran en contacto con la pared bronquial, especialmente ganglios linfáticos mediastínicos. La ecobroncoscopia puede evitar así la realización de técnicas quirúrgicas más costosas e invasivas como la mediastinoscopia (5, 6).
3. *PAAF transesofágica y ecoendoscopia*: La ultrasonografía endoscópica (USE) combina la endoscopia con la ecografía para conseguir imágenes ecográficas de 360° desde el interior del tubo digestivo. La USE-PAAF juega un papel muy importante en el diagnóstico y la estadificación mediastínica del cáncer de pulmón. Tiene un fácil acceso a la mayoría de las estaciones ganglionares implicadas en el cáncer de pulmón y especialmente a aquellas en las que las demás técnicas tienen dificultades (ventana aortopulmonar, subcarinales, paraesofágicas). Tiene también una alta sensibilidad y especificidad incluso para adenopatías menores de 1 cm y, además, ofrece la posibilidad de obtener material citológico con una rentabilidad muy superior a las demás técnicas, con una morbilidad despreciable. La tasa de complicaciones se cifra en menos del 1%.
- Comparada con TAC, PET, mediastinoscopia y PAAF-TB, la USE-PAAF es la técnica más adecuada para la estadificación del cáncer de pulmón. Datos relativamente recientes demuestran que el uso combinado de la ultrasonografía endoscópica con punción (USE-PAAF) y la PAAF-EBUS podrá reemplazar definitivamente a métodos más invasivos en el diagnóstico y estadificación del cáncer de pulmón (7)

Manejo del material citológico para estudios moleculares

Un aspecto esencial en cualquier tipo de abordaje es el control *in situ* de las muestras por un citopatólogo con experiencia durante el procedimiento de punción, lo que se conoce como ROSE: "*Rapid on site evaluation*". En la medida de lo posible se recomienda este abordaje que, además de asegurar la calidad y cantidad óptimas de la muestra, permite prever los estudios complementarios necesarios y adecuar el material obtenido para asegurar un diagnóstico completo del cáncer de pulmón que incluye morfología, inmunocitoquímica y estudios moleculares. Además se evita gran porcentaje de falsos negativos por muestra inadecuada. Este protocolo de trabajo representa el manejo más adecuado de los pacientes evitando procedimientos invasivos innecesarios, y optimiza recursos y costes sanitarios (8, 6, 7).

Los mismos estudios complementarios de inmunocitoquímica, molecular y citometría de flujo que tradicionalmente se realizan en material fresco o parafinado se pueden realizar en material citológico. La clave es el correcto manejo de la muestra desde su obtención. En este sentido es fundamental la implicación y la experiencia de los técnicos de citología y los citopatólogos (9-11).

- *Inmunocitoquímica*: Cualquier anticuerpo puede ser analizado en muestras citológicas. La realización de bloques celulares en la medida de lo posible facilita estos estudios en el sentido de que al poder efectuar varios cortes se pueden testar varios anticuerpos. Sin embargo, en ausencia de bloque celular, estas técnicas se pueden realizar en extensiones citológicas fijadas en alcohol y teñidas con Papanicolaou. **NO** se recomienda desteñir las extensiones y más bien tener en cuenta el tratamiento de recuperación antigénica que en general es un poco más corto. La limitación obvia en casos en que no se dispone de bloque celular es el número de extensiones disponibles para estudios inmunocitoquímicos. Se recomiendan dos: TTF-1 y p40 / p63.

- *Estudios moleculares*: Cualquier muestra citológica correctamente obtenida y procesada es válida para estudios moleculares convencionales (extensiones teñidas, líquidos, bloques celulares, citología líquida, etc.). Nuestra experiencia personal favorece el uso de extensiones citológicas teñidas sobre las que se ha realizado el diagnóstico morfológico para estudios moleculares. De esta forma tenemos la certeza de que el porcentaje de tumor presente en la muestra es adecuado para ese análisis. Además el DNA se conserva mejor en fijadores alcohólicos. Se recomienda la microdissección manual en casos necesarios.

Un aspecto importante son las técnicas de FISH, en concreto la determinación de la presencia de las alteraciones de EML4/ALK y ROS1 en adenocarcinomas de pulmón. Estos estudios pueden realizarse en cortes de bloque celular, en material de citología líquida monocapa y en extensiones citológicas teñidas. En estas últimas es necesario delimitar una zona de la preparación donde las células no estén superpuestas para visualizar correctamente las señales nucleares y optimizar la cantidad de sonda. Una ventaja importante es que analizamos núcleos enteros sin pérdida de señales por efecto del corte.

Informe citopatológico

Al igual que en el informe de biopsia / pieza quirúrgica, mencionar:

1. Tipo de muestra: Especificar en qué material se realiza cada prueba -extensión, bloque, líquido, etc. En las PAAF, especificar la vía de obtención de la muestra.
2. Diagnóstico
3. Si procede: inmunocitoquímica, pruebas moleculares (PCR, FISH)*
4. Otras pruebas (Ej.: citometría)

*PCR:

1. Tipo de muestra (extensión, bloque, etc.)
2. Especificar si se realiza microdissección manual. Método de extracción de ADN y cantidad. Tipo de técnica (pirosecuenciación, tiempo real, etc.)
3. Resultado

*IHQ:

1. Tipo de muestra (extensión, bloque, etc.)
2. Anticuerpos utilizados y controles
3. Resultado

*FISH:

1. Tipo de muestra (extensión, bloque, líquida, etc.)
2. Tipo de sonda
3. Resultado

III. PROTOCOLO PARA EL ESTUDIO MACROSCÓPICO DE LAS PIEZAS QUIRÚRGICAS TUMORALES DE PULMÓN.

Mónica Saiz. Hospital Universitario de Cruces, Bilbao

Existen algunos ítems que deben ser obligatoriamente incluidos al realizar el estudio macroscópico de las piezas quirúrgicas tumorales de pulmón. A continuación se describe la adecuada preparación del espécimen y los criterios para la selección de bloques para inclusión.

Preparación de la pieza:

El tumor se localiza e identifica por palpación, bien se secciona a lo largo de las vías respiratorias principales, o bien se realizan múltiples cortes transversales o sagitales para seccionar y exponer el tumor de acuerdo con la preferencia del patólogo. La preparación difiere según la localización del tumor:

- Central: realizar corte longitudinal de la pared bronquial, desde el margen hasta el tumor (para identificar la relación de la neoplasia con la vía aérea) y secciones seriadas consecutivas.

- Periférico: realizar cortes paralelos de la lesión en relación a la pleura, a fin de localizar el punto de máxima infiltración o proximidad. Es muy recomendable pintar con tinta china la zona de pleura más próxima al tumor, antes de realizar las secciones.

En las neumonectomías hay que distinguir si la resección vascular se ha realizado en un plano intra-pericárdico o extra-pericárdico por la necesidad de examinar el tejido pericárdico (tumores T3 frente a T4). Estos datos, junto a los límites de la pleura mediastínica, es preferible que sean señalados por el cirujano.

Se deben identificar todas las estructuras implicadas por los tumores centrales y perihiliares. Una resección en bloque puede incluir porciones de pleura mediastínica, pericardio, grandes vasos o pared de la aurícula y todos ellos necesitan muestreo completo.

Para valorar márgenes bronquiales y vasculares, incluir los extremos cortados de los vasos ligados y los tejidos blandos adyacentes. Estas muestras deben tomarse antes de la sección del pulmón.

Toma de muestras de tejido, tumoral y no tumoral, para el Biobanco: está indicada sólo en tumores mayores de 1 cm, recordando siempre que la muestra de parénquima sano debe obtenerse antes de cortar el tumor (para evitar la contaminación). En neoplasias de localización periférica, se recomienda la toma mediante un corte oblicuo que no afecte la valoración de la pleura. El número de muestras dependerá del tamaño del tumor. La toma de muestras para el Biobanco no afecta la insuflación con formol (que puede llevarse a cabo tanto desde el límite bronquial como insuflando formol con jeringa de 20 ml el parénquima pulmonar).

Selección de los bloques para la inclusión:

1. Márgenes: bronquial, vascular, mediastínico o de la pared torácica.
2. Adenopatías hiliares e intraparenquimatosas (N1) / extrapulmonares / mediastínicos (N2/3)
3. Tumor:
 - Inclusión total en todos los tumores menores de 2 cm y en todos los que se sospeche adenocarcinoma *in situ* (lepídico), menor de 3 cm.
 - Más de 2 cm: idealmente un bloque por cm del diámetro máximo del tumor
 - Incluir: punto más próximo a la pleura, relación con la pared bronquial y con el pulmón circundante.
4. Resto del pulmón:
 - Lesiones secundarias o "segundas lesiones"
 - Pulmón macroscópicamente sano, alejado del tumor

IV. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS PARA EL MANEJO DE LA BIOPSIA INTRAOPERATORIA

M^a Luz Plaza. Hospital Universitario de Gran Canaria, Dr. Negrín

La importancia de la biopsia intraoperatoria radica en que su diagnóstico puede modificar el acto quirúrgico. Como norma general se incluye para el estudio en congelación el área más sospechosa en la macroscopía, preservando tejido adecuado y suficiente para el diagnóstico definitivo.

Segmentectomía típica, atípica o resección del nódulo tumoral:

- Localizar el nódulo* a investigar: marcado por el cirujano, ayudados por la retracción pleural, mediante palpación y, en un segundo paso, mediante secciones seriadas perpendiculares al borde suturado una vez pintado éste.
- Pintar la línea de sutura con tinta china, cortar lo mas cerca del borde de grapas y volver a pintar el margen parenquimatoso (se puede hacer con diferente color e incluso prescindir de ello).
- Pintar la pleura en la zona de retracción si es necesario realizar el corte a ese nivel. Preservar al máximo el punto de retracción pleural para el estudio en parafina.

- Seccionar el nódulo en el punto más cercano al borde quirúrgico.
 - Medir el tamaño de la lesión y la distancia al margen quirúrgico más cercano (parenquimatoso).
 - Seleccionar la sección a congelar (si es posible incluir parénquima adyacente para evaluar si hay carcinoma *in situ* en la proximidad).
 - Cortes a 5 micras hasta llegar a un diagnóstico (si la sospecha de malignidad es muy alta será preciso realizar cortes a diferentes niveles e incluir otra zona de la lesión identificada macroscópicamente).
- * Los nódulos incidentales menores de 5 mm se deben reservar para su inclusión en parafina. En el caso de que su diagnóstico modifique el acto quirúrgico, se tomará en consideración su inclusión parcial cuidando no comprometer el diagnóstico definitivo.

Lobectomía o neumonectomía para margen quirúrgico:

- Examinar macroscópicamente el margen bronquial (el vascular y /o ganglionar).
- Seccionar transversalmente los 2-3 mm proximales del bronquio para incluir en congelación (evaluamos si es extensión mucosa directa, afectación peribronquial, vasculolinfática o incluso ganglionar).

Pleura para valoración de afectación metastásica o mesotelioma:

- Garantizar la recepción de material suficiente para el estudio definitivo.
- Examinar macroscópicamente e incluir la zona más sospechosa para estudio en congelación. En este contexto, la diferenciación de mesotelioma e hiperplasia mesotelial es muy difícil, al igual que entre metástasis de un carcinoma y un mesotelioma epitelioide, por lo que en muchas ocasiones se deberá diferir el diagnóstico.

Ganglio mediastínico para valoración de metástasis ganglionar:

Si el material consiste en un ganglio **completo**, se realiza una sección medial y se evalúa macroscópicamente el área a congelar. Si el ganglio viene **fragmentado**, se incluye una parte o porción de él. Si el corte de este primer fragmento es negativo, se continúan incluyendo los siguientes.

Otras consideraciones:

La citología en intraoperatoria (extensión o impronta) hace patente el artefacto característico del carcinoma de célula pequeña (no visible en corte en congelación), ayuda a evidenciar el pigmento melánico, es de utilidad diagnóstica ante la sospecha de linfoma y en ocasiones también en el estudio del borde de la sutura (parenquimatoso).

V. MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS DE MAYOR UTILIDAD

Ignacio Aranda López, Hospital General Universitario de Alicante

Los nuevos tratamientos del cáncer de pulmón hacen necesaria una clasificación más precisa de sus subtipos histológicos, principalmente con referencia a la diferenciación entre adenocarcinoma (ACA) *versus* carcinoma de células escamosas (CCE). Considerando que aproximadamente 70% de los casos de carcinoma pulmonar no son operables, se obliga a un diagnóstico basado de forma casi exclusiva en tomas de biopsias o de citología (1). La nueva clasificación del ACA pulmonar ha introducido nuevos criterios y terminología aplicadas a los diagnósticos realizados sobre biopsias pequeñas y citologías, y recomiendan la aplicación de la inmunohistoquímica (IHQ) sólo para aquellos casos en que la subclasificación basada en criterios morfológicos de H&E sea insuficiente, ya que si bien el patólogo tiene la responsabilidad de emitir un diagnóstico correcto, también está en obligación de preservar el tejido suficiente que permita la realización de técnicas moleculares en caso necesario (1). El informe patológico debe dejar claramente establecido si el diagnóstico se ha basado únicamente en criterios morfológicos convencionales o si se apoya en técnicas complementarias de IHQ (1).

ACA versus CCE

En el contexto de ACA *versus* CCE los anticuerpos de mayor utilidad son TTF-1, Napsina, p40/p63 y CK5-6 (1,2,3,4,5). En general se considera que la positividad para TTF-1 y/o Napsina es orientativa de ACA (con una sensibilidad en torno al 85-90%), y la expresión de p40/p63 y/o CK5 lo es de CCE, positivo en más del 90% para estos marcadores (**Tabla 1**). Con la combinación de estos anticuerpos se consigue reclasificar como ACA o CCE más del 80% de los casos que no presentan signos de diferenciación con H&E (6), con una sensibilidad y especificidad de prácticamente 100% para el CCE, y una sensibilidad del 86% y especificidad del 100% para el ACA (5). La CK7, si bien es positiva en más del 95% de los ACA, se considera poco útil por su baja especificidad. Si bien algunas guías recomiendan la aplicación de únicamente dos marcadores IHQ (TTF1 y p40) (7), no existe consenso al respecto, y en casos seleccionados, algunos autores utilizan paneles de 4 o incluso 6 anticuerpos. Idealmente se debe preservar tejido para las determinaciones moleculares correspondientes.

Existen otros anticuerpos de uso emergente como desmogleina-3 (8) o HNF4 α (9) cuya utilidad diagnóstica está pendiente de confirmación. Una alternativa puede ser la utilización de métodos de doble tinción que permiten una mayor preservación de tejido (10). Los tumores diagnosticados en biopsias pequeña/citología con IHQ no orientativa deberán ser denominados "carcinoma pulmonar de célula no pequeña, tipo no especificado" (CPCNP-NE) (1), si bien recientemente se ha sugerido que su perfil clínico-patológico es superponible a los adenocarcinomas sólidos (11).

Adenocarcinomas mucinosos.

Los ACA-M constituyen aproximadamente un 5% de los ACA pulmonares, y son más frecuentes en mujeres no fumadoras. En torno al 50% presentan mutaciones en KRAS, y raramente en EGFR (3%). El principal diagnóstico diferencial que plantean es con ACA-M metastático de origen gastrointestinal. Los pulmonares son generalmente positivos para CK7 y negativos o sólo positivos de forma focal para CK20. En el contexto de ACA-M, disminuye la sensibilidad de TTF-1 y Napsina, cuya expresión es muy variable. Asimismo, CDX2 (anticuerpo relativamente específico y sensible en tracto gastrointestinal), puede presentar casos negativos o con positivities focales (5). Es importante no valorar como positivos para TTF-1 o Napsina la expresión de estos marcadores en elementos incluidos. El nuevo marcador HNF4 α parece ser altamente sensible y específico para el ACA-M pulmonar (8).

Carcinomas neuroendocrinos.

Los marcadores neuroendocrinos más utilizados son cromogranina, sinaptofisina y CD56 (5), sin embargo, 5-10% de los carcinomas de célula pequeña (CCP) y de los carcinomas neuroendocrinos de célula grande (CNECG) son negativos para estos tres marcadores. La expresión de CK7 y TTF1 es variable, con un 16% y 24% de positividad de los tumores carcinoides (TC), un 56% y 47% en los CNECG y un 25% y 86% en los CCP, respectivamente (5). El índice de proliferación celular con Ki-67 puede ser útil en el diagnóstico diferencial de estos tumores sobre biopsias pequeñas, ya que se sitúa en menos del 5% en los TC típicos, en menos del 10% para los atípicos y por encima del 50% en CNECG y en CCP. Los carcinomas NE suelen ser negativos para CK 5/6 (positividad focal en el 1%), y para Napsina (salvo el CNECG, positivo en el 10%).

En ocasiones, CPCNP-NE sin rasgos neuroendocrinos pueden presentar positivities focales para CD56 o para sinaptofisina ("CPCNP con diferenciación neuroendocrina"). Por el momento se desconoce si esta expresión presenta algún significado clínico (5).

Marcadores predictivos de respuesta.

Algunos estudios inmunohistoquímicos recientes parecen demostrar la utilidad de anticuerpos específicos de mutación en la evaluación del cáncer pulmonar. En relación con EGFR, los anticuerpos específicos de la mutación en el exón 19 presentan una sensibilidad del 100%, aunque es menor cuando las mutaciones se producen fuera de las "zonas calientes" (5).

Respecto a la traslocación EML4-ALK, el clon D5F3 (*Cell Signaling Technology/Ventana*) y el 5A4 (Abcam/Santa Cruz/Novocastra) muestran sensibilidades del 90-98% con el 85-100% de especificidad comparados con el ALK-FISH (11, 12).

El reordenamiento del gen ROS1 se ha descrito en el 1-2 % de los ACA pulmonares y se asocia con respuesta a inhibidores tirosin quinasa como Crizotinib®. Se ha demostrado que la evaluación IHQ con el clon D4D6 presenta una sensibilidad del 100% con una especificidad del 92% (13, 14). La IHQ de estos marcadores parece ser una herramienta prometedora para el screening de mutaciones en el cáncer pulmonar susceptible de tratamiento específico.

VI. ESTUDIO DE LAS PIEZAS DE RESECCIÓN TRAS LA NEOADYUVANCIA

Clara Salas. Hospital Universitario Puerta de Hierro, Madrid

En oncología, la evaluación de la respuesta al tratamiento, así como predecir de forma correcta la supervivencia, son los factores clave para el control efectivo de la enfermedad, y a la vez, para diseñar y desarrollar futuros tratamientos. Múltiples estudios demuestran que en el cáncer de pulmón, al igual que en otros tumores humanos, la regresión tumoral tras la inducción está en relación con la supervivencia global (SG) y que es un factor pronóstico independiente.

Los estudios morfológicos en las piezas de resección de la cirugía torácica oncológica tras neoadyuvancia, se basan en las publicaciones pioneras de Junker y cols., de la ciudad alemana de Bochum (1-3), quienes han descrito los cambios que señalan la regresión tumoral inducida por el tratamiento y proponen el *sistema de clasificación de la regresión tumoral de Bochum*, el más seguido en todo el mundo, y que sirve de referencia para el resto de publicaciones (**Tabla 2**). Posteriormente se ha validado la importancia pronóstica de esta evaluación patológica en los diferentes tipos de carcinomas de célula no pequeña, estadios tumorales y tipos de tratamientos (radio y/o quimioterapia e incluso con los nuevos fármacos inhibidores tirosina quinasa (ITKs)). Los porcentajes de células tumorales viables residuales predicen la supervivencia y el intervalo libre de enfermedad en los pacientes con cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP) reseccionados después de la quimioterapia neoadyuvante, incluso cuando se controla por el estadio patológico. Potencialmente podría tener un papel a añadir a la etapa patológica en la evaluación de pronóstico, respuesta a la quimioterapia, y la necesidad o no, de terapias adyuvantes adicionales (4)

En cuanto a la valoración de la respuesta del tumor mediante tomografía computarizada (TC) utilizando los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST) se ha evidenciado una correlación con la supervivencia global en los pacientes con CPCNP después del tratamiento neoadyuvante y resección quirúrgica. Sin embargo, en comparación con la valoración histopatológica, la TC/RECIST no es un predictor tan fiable de la SG, por lo que tiene un papel limitado como criterio de valoración de eficacia después de quimioterapia neoadyuvante (5). En resumen:

- Los grados de regresión tumoral son un factor pronóstico independiente en el cáncer de pulmón avanzado.
- La respuesta histopatológica a la inducción se asocia con la SG y la SLE si el tumor muestra <10% de células tumorales viables.
- No hay correlación entre la regresión patológica y la radiológica. TC/ RECIST proporcionan sólo una evaluación macroscópica del tumor primario, lo que supone importantes implicaciones para los ensayos clínicos.
- El estudio histopatológico tras la neoadyuvancia podría ser un valor a añadir al estado patológico para clarificar la evolución pronóstica y la necesidad de otras terapias adyuvantes.

Consideraciones a tener en cuenta en el estudio macroscópico:

- Pieza quirúrgica
 1. Dimensiones del tumor macroscópicamente visible o medida de la induración-consolidación del lecho tumoral.

2. Cortes paralelos al diámetro mayor de la pieza con un espesor aproximado 1 cm para su fijación en formaldehído.
3. Tras la fijación, se procederá a la inclusión total del tumor, según la imagen macroscópica:
 - Si no se identifica regresión tumoral se incluyen cortes representativos (1 corte por cm).
 - Si en el estudio histológico con H&E de un nódulo, los cortes incluidos no contienen tumor viable, el nódulo debe ser incluido en su totalidad antes de emitir el diagnóstico de regresión completa.
- Inclusión de los ganglios (6)
 1. En presencia de tumor macroscópico: una o varias secciones son suficientes para demostrar el tumor y su posible extensión extranodal
 2. En la ausencia de crecimiento macroscópicamente detectable: se procederá a la inclusión total del ganglio.

VII. INFORME ANATOMO-PATOLÓGICO DE LA PIEZA QUIRÚRGICA

Luz Martín, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid.

El informe anatomopatológico es esencial para planificar adecuadamente el tratamiento de los pacientes con cáncer de pulmón. Debe ser completo, incluir información sobre el diagnóstico y estadificación de la enfermedad y señalar cualquier otro dato que pueda influir en el pronóstico de la misma.

Considerando los protocolos internacionales más ampliamente aceptados (*CAP, Royal College of Pathologists of Australasia; Royal College of Pathologists of the United Kingdom*) se presenta una propuesta, a manera de lista de verificación, para el informe de piezas quirúrgicas pulmonares con patología tumoral. En él se incluyen datos *imprescindibles* (obligatorios) y otros *recomendados* (aquellos en que no existe evidencia científica suficiente de su utilidad pronóstica) (1)

DATOS OBLIGATORIOS

A. Información macroscópica

1. Tipo de resección: Segmentectomía / Lobectomía / Bilobectomía / Neumonectomía / Resección pulmonar atípica.
2. Lateralidad
3. Estructuras anatómicas adyacentes: No / Si (especificar)
4. Otras muestras: Ganglios linfáticos
5. Localización del tumor: Periferia/ Bronquio
6. Medida (diámetro máximo) (A)
7. Afectación del bronquio principal: distancia a carina (< o > 2 cm) (B)
8. Nódulos tumorales separados: Ausentes / Presentes (especificar número, localización: mismo lóbulo; distinto lóbulo ipsilateral; pulmón contralateral (C)
9. Atelectasia / Neumonía obstructiva: Ausente / presente (especificar extensión: todo el lóbulo / pulmón) (D)
10. Distancia al margen quirúrgico (E)

B. Información microscópica

1. Tipo histológico (OMS 2004- IASLC/ATS/ERS 2011) (F)
2. Múltiples nódulos (sincrónicos / metástasis) (C)
3. Respuesta a tratamiento adyuvante (si procede)
4. Menos del 10% de tumor residual viable
5. Más del 10% de tumor residual viable
6. Invasión de estructuras adyacentes: (pared torácica, diafragma, nervio frénico, pleura mediastínica, grasa mediastínica, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio laríngeo recurrente, esófago, cuerpos vertebrales)

7. Invasión linfovascular: Presente / Ausente / Indeterminada (G)
8. Margen quirúrgico bronquial: Negativo / Positivo (carcinoma infiltrante / carcinoma in situ) (H)
9. Margen quirúrgico vascular: Negativo / Positivo (H)
10. Otros márgenes quirúrgicos: especificar (H)
11. Ganglios linfáticos
 - Número de ganglios metastatizados / total (salvo si se reciben fragmentados)
 - Extensión extranodal: especificar
 - Región: especificar
12. Invasión de la pleura visceral: Sí / No (I)
13. Estadío patológico (TNM, 7ª ed.)

DATOS RECOMENDADOS / OPCIONALES

1. Datos morfológicos complementarios
 - Grado histológico (G1/G2/G3)
 - Marcadores inmunohistoquímicos
 - Resultados de estudios moleculares (EGFR, ALK)
 - Otros procesos neoplásicos (tumorlets, lesiones precursoras: hiperplasia adenomatosa atípica, hiperplasia neuroendocrina, displasia escamosa)
2. Enfermedad pulmonar no neoplásica (fibrosis pulmonar, neumoconiosis...)
3. Aspecto macroscópico de la pleura
4. Extensión de la infiltración pleural (PL0-PL3) (I)
5. Invasión perineural (J)
6. Necrosis/Mitosis (J)
7. Infiltrado inflamatorio peritumoral

BUENA PRÁCTICA

1. Descripción macroscópica
2. Identificación de bloques

COMENTARIOS

- A. *Tamaño del tumor*: Es esencial para la estadificación T. Debe medirse en fresco para evitar artefactos postfijación; en caso de neumonitis obstructiva adyacente, la medida se debe ajustar microscópicamente (1). Si hay múltiples tumores sincrónicos, la categoría T se establece en base al nódulo de mayor tamaño (2).
- B. *Afectación del bronquio principal*: Este elemento de estadificación sólo es aplicable en tumores centrales y en piezas de neumonectomía. Generalmente es imprescindible hacer correlación con la radiología y la información del cirujano sobre la distancia del tumor a la carina (1).
- C. *Nódulos tumorales separados*: Distinguir si se trata de tumores sincrónicos o metástasis, ya que la estadificación es diferente. Se consideran tumores **sincrónicos** cuando los nódulos tumorales tienen diferente histología o en caso de histología similar, cuando están en distintos lóbulos, segmentos o pulmones, si asocian carcinoma *in situ*, en ausencia de infiltración en vasos linfáticos y de metástasis extraganglionares (2). Recientemente se ha propuesto realizar un estudio histológico exhaustivo de los tumores (patrones morfológicos, porcentajes de los mismos, características del estroma), como un método adecuado para distinguir tumores sincrónicos de metástasis (3).

En el contexto de tumores sincrónicos, se debe añadir el sufijo (m) a la pT, que corresponderá al nódulo de mayor tamaño. En caso de tumores **metastásicos**, la estadificación será pT3 si están en el mismo lóbulo, pT4 si se encuentran en distinto lóbulo ipsilateral y pM1 si se localizan en el pulmón contralateral (4).
- D. *Atelectasia / Neumonía obstructiva*: La presencia y extensión (todo el lóbulo o todo el pulmón) de atelectasia o neumonitis obstructiva influye en la categoría pT. Se observa en tumores centrales o con creci-

miento endobronquial. No siempre es fácilmente valorable en las piezas quirúrgicas, por lo que resulta útil correlacionarlo con las técnicas de imagen (1,4).

E. *Distancia al margen quirúrgico más próximo*: Parámetro importante para la planificación de tratamientos complementarios. Sólo es relevante cuando la distancia de éste al tumor se puede visualizar en una preparación histológica, en cuyo caso se debe medir sobre la misma (1).

F. *Tipo histológico*: Los tumores se deben clasificar según la clasificación OMS 2004 (5) a excepción del adenocarcinoma, que se debe categorizar según la clasificación IASLC/ATS/ERS (6). En lo posible, evitar el término "carcinoma de célula no pequeña" ya que es esencial clasificar adecuadamente los tumores para planificar el tratamiento quimioterápico más adecuado y para solicitar los estudios moleculares correspondientes, dada la asociación (principalmente del adenocarcinoma) con determinadas alteraciones genéticas (6-8).

- En casos de **adenocarcinoma**:

1. Adenocarcinoma mínimamente invasivo (MIA, por sus iniciales en inglés): medir el foco infiltrante de mayor tamaño con una regla sobre la preparación histológica, o bien se puede calcular según el porcentaje del componente infiltrante (7,9).
2. Adenocarcinomas infiltrantes: evaluación cuantitativa de los diferentes subtipos histológicos y clasificarlo según el tipo predominante (rangos de 5%) (6,7). Recientemente se ha propuesto que la medida del adenocarcinoma infiltrante predominantemente lepidico debe realizarse sobre el componente infiltrante, ya que existe una mejor correlación con el pronóstico, sobre todo en tumores en estadio I (7,9).
3. Subtipos histológicos asociados a mal pronóstico: sólido, micropapilar (10-12) y el recientemente descrito patrón acinar complejo y cribiforme (13, 14).

No existe una propuesta definitiva para la graduación de adenocarcinomas, aunque se han sugerido varias, utilizando diferentes parámetros, de forma aislada o combinados (grado histológico, mitosis, grado nuclear) (15,16).

- El **carcinoma de célula grande** es un diagnóstico de exclusión (5). Si con técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) se demuestra diferenciación escamosa o glandular, se debe indicar en un comentario (1). Algunos autores proponen estudios moleculares y de IHQ como métodos para reclasificar el carcinoma de célula grande. En la próxima clasificación de la OMS, la categoría de carcinoma de célula grande quedará reducida a un pequeño grupo de carcinomas indiferenciados (excluyendo el carcinoma de célula pequeña y el carcinoma pleomorfo/sarcomatoide), que no presentan un perfil IHQ que permita reclasificarlos como carcinoma escamoso, adenocarcinoma o carcinoma neuroendocrino de célula grande (17-20).

- En los **carcinomas neuroendocrinos** no se ha demostrado la utilidad de aplicar el sistema de graduación de los carcinomas neuroendocrinos del tracto gastrointestinal (21, 22). El estudio IHQ con Ki-67 en la pieza quirúrgica tiene un valor limitado (23).

G. *Invasión linfovascular*: Es un factor pronóstico independiente en el cáncer de pulmón pero no hay acuerdo sobre si la invasión venosa o arterial tiene valor pronóstico independiente de la invasión linfática, por lo que en el informe no es necesario especificarlo (1)

H. *Margen quirúrgico bronquial, vascular, otros*: El estado del margen quirúrgico influye en la planificación de tratamientos adyuvantes postoperatorios y es un factor pronóstico de la enfermedad. Se deben valorar los márgenes bronquial, vascular y parenquimatoso (en segmentectomías, cuñas o resecciones atípicas) así como aquellos indicados por el cirujano en el caso de resecciones en bloque.

Se considera margen bronquial o vascular positivo cuando el tumor está en la luz, íntimamente adherido a la pared y/o la está infiltrando. Hay controversia sobre la importancia pronóstica de la afectación aislada de los tejidos peribronquiales o de permeación linfática, o de la presencia sólo de tumor endoluminal. No obstante en el informe se debe indicar la naturaleza de la afectación del borde de resección (1).

La presencia de carcinoma *in situ* en el borde bronquial es rara en caso de carcinoma escamoso y aunque aparentemente no tiene influencia pronóstica, debe indicarse (24). No está clara la influencia de

afectación de margen por adenocarcinoma *in situ* en piezas de resección en cuña (24). Si en una pieza quirúrgica se encuentran márgenes positivos adicionales, se deben indicar en el informe, especificando la localización (1).

- I. *Invasión de la pleura visceral*: Constituye un factor pronóstico adverso independiente. Modifica el estadio T en tumores <3 cm. Para considerar invasión, el tumor debe rebasar la lámina elástica de la pleura visceral o extenderse a la superficie de la pleura visceral (25, 26). En los tumores en estrecho contacto con la pleura, el empleo de técnicas de orceína son de gran ayuda. En casos dudosos (tumores con fibrosis y elastosis, en los que no se perciben bien los límites con la pleura visceral, o piezas sin revestimiento pleural) evitar la sobre estadificación (2,27). No parece necesario especificar la extensión de la afectación de pleura visceral (PL0/PL1/PL2/PL3) (26, 27), aunque se puede detallar opcionalmente (1).
- J. *Invasión perineural, presencia de necrosis, mitosis*: No se ha demostrado que la invasión perineural, o la presencia de apoptosis o necrosis tenga influencia en el pronóstico de la enfermedad (1, 28).

VIII. BIOMARCADORES CON INTERÉS PREDICTIVO EN EL CARCINOMA DE PULMÓN

Esther Conde¹, Javier Gómez-Román², Fernando López-Ríos¹

(1) Laboratorio de Dianas Terapéuticas. Hospital Universitario HM Sanchinarro. Madrid

(2) Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha experimentado un cambio paradigmático en el conocimiento y manejo del cáncer de pulmón y, en particular, en el carcinoma de pulmón de célula no pequeña (CPCNP). A medida que los avances en el estudio de la biología molecular de estos tumores han conducido a la identificación de diferentes alteraciones genético-moleculares asociadas con su desarrollo, ha sido posible dividir los CPCNP en subgrupos genéticamente definidos de acuerdo con la frecuencia de dichas alteraciones (1-3). Estas alteraciones se están convirtiendo en marcadores de utilidad en el diagnóstico y en el establecimiento del pronóstico, así como en biomarcadores predictivos de eficacia a terapias dirigidas (4). La selección del tratamiento basado en marcadores moleculares predictivos ha modificado sustancialmente el enfoque clínico de los pacientes con un CPCNP y las líneas de investigación de los últimos años.

La respuesta a inhibidores tirosina quinasa (ITKs) en pacientes portadores de mutaciones en el gen *EGFR* representa uno de los mayores avances terapéuticos en el CPCNP de la última década (5-7). En el año 2007, la identificación de la translocación del *ALK* se sumó al listado de biomarcadores predictivos en el CPCNP (8). Hoy en día, ambas determinaciones se consideran esenciales en la práctica clínica a la hora de decidir las opciones terapéuticas de un paciente con carcinoma de pulmón, siendo además una información relevante en el diseño de ensayos clínicos prospectivos.

RECOMENDACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES EN EL CARCINOMA DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA

Actualmente se debe realizar la determinación de las mutaciones en el gen *EGFR* y de los reordenamientos de *ALK* en todos los pacientes con CPCNP no escamoso estadio IV independientemente del hábito tabáquico y en los no fumadores independientemente de la histología en el momento de su diagnóstico, según las guías CAP/IASLC/AMP (*College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology*) (9) y la reciente actualización del consenso nacional SEAP/SEOM (Sociedad Española de Anatomía Patológica y Sociedad Española de Oncología Médica) (10). Se recomienda tener los resultados en 7-10 días laborables desde la recepción de la muestra (9, 10).

TIPO DE MUESTRA ÓPTIMA Y GESTIÓN DE LA MISMA PARA EL ESTUDIO DE BIOMARCADORES

Respecto a la muestra óptima para el estudio molecular de biomarcadores, se recomienda utilizar muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. Una muestra obtenida por cirugía, broncoscopia o biopsia por punción es igual de válida siempre que tenga una cantidad suficiente de células tumorales. Las muestras citológicas (bloques celulares, extensiones citológicas teñidas o preparaciones en base líquida) se consideran adecuadas, prefiriéndose los bloques celulares (9-11). Se considera fundamental revisar todas las muestras tumorales (tanto biopsias como citologías) de un paciente a la hora de decidir sobre cuál se van a realizar los estudios de biomarcadores (10, 12).

Con el objetivo de tratar de garantizar tanto el diagnóstico anatomopatológico como la determinación de múltiples biomarcadores predictivos se recomiendan protocolos de aprovechamiento tisular (10, 13). La secuencia de pasos que se propone es la siguiente: (i) realizar una sección inicial teñida con hematoxilina-eosina (H&E) para obtener el diagnóstico anatomopatológico y programar (sólo si la diferenciación glandular o escamosa no es evidente) 2 cortes para la realización de las pruebas inmunohistoquímicas (TTF-1 y p40); (ii) efectuar una serie de cortes para la extracción de ADN (el número y el grosor de los mismos depende del protocolo de extracción de ADN de cada laboratorio, pudiéndose realizar a partir de una sola sección de 5 micras) y llevar a cabo el estudio de las mutaciones de *EGFR*; (iii) realizar 1-2 cortes para realizar las técnicas de determinación de *ALK*; y por último, (iv) efectuar una sección teñida con H&E para comprobar la presencia de células tumorales (Figura 1) (10).

Se recomienda determinar *EGFR* y *ALK* de forma simultánea. En los casos en los que no sea posible, se aconseja realizar las secciones para ambos biomarcadores al mismo tiempo, aunque el estudio de uno de ellos se active solo en el caso de que el otro haya sido negativo (10).

MUTACIONES DE *EGFR*

Las mutaciones en el gen *EGFR* se identifican en aproximadamente el 10-16% de los CPCNP en nuestro medio, siendo más frecuentes en adenocarcinomas (AC) de patrón lepidico, papilar o micropapilar, y en pacientes no fumadores (5-7, 14-17). Las mutaciones más frecuentes y que se relacionan directamente con sensibilidad al tratamiento con inhibidores específicos afectan al exón 19, tratándose de deleciones que conservan la pauta de lectura (*in-frame deletions*) entre los codones 746 y 759 (45-50%), seguidas de mutaciones puntuales tipo "cambio de sentido" (*missense point mutations*) en el exón 21 [sustitución del aminoácido leucina por arginina en la posición 858 (L858R)] (35-45%). Otras mutaciones sin clara relación con la respuesta a fármacos inhibidores específicos comprenden inserciones y/o duplicaciones en el exón 20 y mutaciones puntuales en el exón 18 (5-7).

En relación a la metodología, las pruebas clínicas para la determinación de *EGFR* deben ser capaces de detectar todas las mutaciones individuales que han sido informadas con una frecuencia de al menos un 1% de los AC de pulmón *EGFR* mutados (9, 10). Se recomienda utilizar, siempre que sea posible, un método de alta sensibilidad como los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real cobas *EGFR* Mutation Test (CE-marked, Roche Molecular Systems) o theascreen *EGFR* RGQ PCR Kit (CE-marked, Qiagen). Asimismo, se aconseja sólo utilizar la secuenciación directa cuando el porcentaje tumoral sea de al menos un 30% (10, 12, 18). En cuanto a los informes de los resultados, se deben especificar las mutaciones que han sido detectadas y la sensibilidad de los métodos de detección utilizados (9, 10).

REORDENAMIENTOS DE *ALK*

La presencia de la translocación de *ALK* se identifica en el 3-10% de los CPCNP (19, 20), siendo más frecuente en AC de patrón cribiforme o con células "en anillo de sello", en estadios avanzados, pacientes más jóvenes y con escasa o nula historia de tabaquismo (21). La translocación de *ALK* no suele coexistir con las mutaciones de *EGFR* (3).

En cuanto a la metodología disponible, se recomienda su determinación mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) utilizando sondas de rotura con color dual (9), como por ejemplo la sonda comercial Vysis® *ALK* Break-Apart FISH Probe Kit (Abbott Molecular, Inc.), única prueba aprobada por la *Food and Drug*

Administration (FDA) hasta la fecha, si bien existen otras sondas en el mercado disponibles en la actualidad. A este respecto es interesante destacar que un escáner de FISH ha recibido recientemente aprobación por la FDA para la interpretación de esta sonda de ALK (10, 22). Por otra parte, la inmunohistoquímica (IHQ) utilizando anticuerpos con alta sensibilidad, como por ejemplo D5F3 (Ventana) y 5A4 (Novocastra), se propone como método de cribado previo a la confirmación con el método FISH (9, 10, 23). La mayor parte de las series publicadas muestran una concordancia muy elevada entre ambas técnicas (24-26), si bien existen falsos positivos y negativos con ambas metodologías. Como regla práctica, se recomienda realizar dos métodos de estudio cuando existan incertidumbres como, por ejemplo: una dudosa respuesta al tratamiento de un caso informado como positivo, las determinaciones en los carcinomas escamosos, una tinción inmunohistoquímica no claramente granular, patrones atípicos del FISH (polisomías, amplificaciones, duplicaciones, monosomías) o resultados "borderline" por FISH (10, 27). En cuanto a la técnica molecular de RT-PCR, si bien puede mostrar una sensibilidad y especificidad adecuada, no se recomienda (9).

OTROS BIOMARCADORES

Los continuos avances en el campo de la biología molecular están permitiendo la identificación de nuevos y potenciales biomarcadores predictores de eficacia a determinados fármacos, especialmente en AC de pulmón, tales como: mutaciones de *KRAS*, *BRAF* y *HER2*; reordenamientos de *ROS1*, *RET* y *NTRK1*; y amplificación de *MET* y *HER2*, entre otros (1-4).

En carcinomas escamosos, algunos potenciales biomarcadores de interés son: mutaciones o amplificación de *PI3KCA*, amplificación de *FGFR1* o mutaciones de *DDR2* (2, 28).

Por último, un campo prometedor en el tratamiento del cáncer de pulmón que está emergiendo es la inmunoterapia, con la expresión de PD-L1 como posible biomarcador inmune (29, 30).

BIBLIOGRAFÍA

PAAF en pulmón: Métodos de abordaje y manejo de muestras para estudios moleculares

1. Geraghty PR, et al. CT-guided transthoracic needle aspiration biopsy of pulmonary nodules: needle size and pneumothorax rate. *Radiology* 2013; 229:475-81.
2. Wallace MB, Pascual JM, Raimondo M, Woodward TA, McComb BL, Crook JE, Johnson MM, Al-Haddad MA, Gross SA, Pungpapong S, Hardee JN, Odell JA. Minimally invasive endoscopic staging of suspected lung cancer. *JAMA* 2008; 299:540-6.
3. Odrionic SI, Gildea TR, Chute DJ. Electromagnetic navigation bronchoscopy-guided fine needle aspiration for the diagnosis of lung lesions. *Diagn Cytopathol* 2014; 42:1045-50.
4. Seijo LM, de Torres JP, Lozano MD, Bastarrika G, Alcaide AB, Lacunza MM, Zulueta JJ. Diagnostic yield of electromagnetic navigation bronchoscopy is highly dependent on the presence of a bronchus sign on CT imaging: Results from a prospective study. *Chest* 2010; 138:1316-21.
5. Harris CL, Toloza EM, Klapman JB, Vignesh S, Rodriguez K, Kaszuba FJ. Minimally invasive mediastinal staging of non-small-cell lung cancer: emphasis on ultrasonography-guided fine-needle aspiration. *Cancer Control* 2014; 21:15-20.
6. Collins BT, Chen AC, Wang JF, Bernadt CT, Sanati S. Improved laboratory resource utilization and patient care with the use of rapid on-site evaluation for endobronchial ultrasound fine-needle aspiration biopsy. *Cancer Cytopathol* 2013; 121:544-51.

7. Fassina A, Corradin M, Zardo D, Cappellesso R, Corbetti F, Fassan M. Role and accuracy of rapid on-site evaluation of CT-guided fine needle aspiration cytology of lung nodules. *Cytopathology* 2011;22:306-12.
8. Lozano MD, Zulueta JJ, Echeveste JI, Gúrpide A, Seijo LM, Martín-Algarra S, Del Barrio A, Pio R, Idoate MA, Labiano T, Pérez-Gracia JL. Assessment of epidermal growth factor receptor and K-ras mutation status in cytological stained smears of non-small cell lung cancer patients; correlation with clinical outcomes. *Oncologist* 2011;16:877-85.
9. Lozano MD, Labiano T, Zudaire MI, et al. Usefulness of cytological samples (CS) for the assessment of ALK rearrangements in non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol.* 2012;30:Abstract e18008
10. MD Lozano, T Labiano, I Zudaire, JC Subtil, A Gúrpide, JI Echeveste, JJ Zulueta, S Martín-Algarra, JL Pérez-Gracia. Variations in molecular profile in NSCLC can be analyzed using cytological samples: development of EGFR resistance mutations and coexistence of ALK-EML4 translocation in an EGFR sensitive patient. *Int J Surg Pathol* 2014. In press.
11. Lozano MD, Labiano T, Echeveste J, Gúrpide A, Martín-Algarra S, Zhang G, Sharma A, Palma JF. Assessment of EGFR and KRAS mutation status from FNAs and core-needle biopsies of nonsmall cell lung cancer. *Cancer Cytopathol.* 2014 Dec 19. In press

Protocolo para el estudio macroscópico de piezas quirúrgicas tumorales de pulmón:

1. Edge, S., Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G., Greene, F.L., Trotti, A. *AJCC Cancer staging handbook*. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010: 111-122

Consideraciones prácticas para el manejo de la biopsia intraoperatoria:

1. Allen TC, Cagle PT. *Frozen section library: lung*. Springer. 2009
2. Gordon IO, Suzue K, Husain AN. Lung, mediastinum and pleura in *Biopsy interpretation: the frozen section*. Lippincot Williams & Wilkins. 2010.
3. Gupta R, Dastane A, McKenna RJ Jr, Marchevsky AM. What can we learn from the errors in the frozen section diagnosis of pulmonary carcinoid tumors? An evidence-based approach. *Hum Pathol.* 2009 Jan;40(1):1-9.
4. 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.
5. Lardinois D. Pre- and intra-operative mediastinal staging in non-small-cell lung cancer. *Swiss Med Wkly.* 2011 Mar 8;141-47.
6. Marchevsky AM, Changsri C, Gupta I et al. Frozen section diagnoses of small pulmonary nodules: Accuracy and Clinical Implications. *Ann Thorac Surg* 2004;78:1755– 60.
7. Owen RM, Force SD, Gal AA et al. Routine intraoperative frozen section analysis of bronchial margins is of limited utility in lung cancer resection. *Ann Thorac Surg.* 2013 Jun;95(6):1859-65.
8. Sienko A, Allen TC, Zander DS, Cagle PT. Frozen sections of lung specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 2005; 129(12):1602-1609.

9. Van Schil PE, Asamura H, Rusch VW et al. Surgical implications of the new IASLC/ATS/ERS adenocarcinoma classification. *Eur Respir J.* 2012 Feb;39(2):478-86.
10. Walts AE, Marchevsky AM. Root Cause analysis of problems in the frozen section diagnosis of in situ, minimally invasive, and invasive adenocarcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136:1515-1521.
11. Xu X, Chung JH, Jheon S et al. The accuracy of frozen section diagnosis of pulmonary nodules: evaluation of inflation method during intraoperative pathology consultation with cryosection. *J Thorac Oncol.* 2010 Jan;5(1):39-44.
12. Guías de los colegios de patólogos americanos, ingleses y de Australasia. (Referencias incluidas en los apartados de macro y de micro)

Marcadores inmunohistoquímicos de mayor utilidad:

1. Travis, W.D, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2013; 137, 668–84.
2. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimen: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK 5-6. *Am J Surg Pathol* 2011; 25: 15-25.
3. Bishop, J. a et al. p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod. Pathol.* 2012; 25, 405–15.
4. Whithaus K, Fukoaka J, Prihoda TJ, Jagirdar J. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med* 2012; 136: 155-62.
5. Zhang, K., Deng, H. & Cagle, P.T. Utility of immunohistochemistry in the diagnosis of pleuropulmonary and mediastinal cancers: a review and update. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2014; 138, 1611–28.
6. Tacha D, Yu C, Bremer R, et al. A 6-antibody panel for the classification of lung adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012; 20: 201-7.
7. López-Ríos F, de Castro J, Concha A, Garrido P, Gómez-Román J, Isla D, et al. Actualización de las recomendaciones para la determinación de biomarcadores en el carcinoma de pulmón avanzado de célula no pequeña. *Rev Esp Patol* 2015 (en prensa).
8. Monica, V, Ceppi P, Righi L, et al.. Desmocollin-3: a new marker of squamous differentiation in undifferentiated large-cell carcinoma of the lung. *Mod. Pathol* 2009; 22, 709–17.
9. Sugano M, Nagasak T, Sasaki E, et al. HNF4 α as a marker for invasive mucinous adenocarcinoma of lung. *A, J Surg Pathol* 2013; 27: 211-8.
10. Brown AF, Sirohi D, Fukoaka J, et al. Tissue-preserving antibody cocktails to differentiate primary squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and small cell carcinoma of lung. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137: 1274-81.

11. Hwang DH, Szeto DP, Perry AS, et al. Pulmonary large cell carcinoma lacking squamous differentiation is clinicopathologically indistinguishable form solid-subtype adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 138: 626-35.
12. Conde E, Suárez-Gauthier A, Benito A, Garrido P, García-Campelo R, Biscuola M et al. Accurate Identification of ALK Positive Lung Carcinoma Patients: Novel FDA-Cleared Automated Fluorescence In-Situ Hybridization Scanning System and Ultrasensitive Immunohistochemistry. *PLoS ONE* 9(9): e107200. doi:10.1371/journal.pone.0107200
13. Selinger CI, Rogers TM., Russel PA, et al. Testing of ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicentre comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol* 2013; 26: 1545-53.
14. Yoshida, A. et al. Immunohistochemical detection of ROS1 is useful for identifying ROS1 rearrangements in lung cancers. *Mod. Pathol* 2014; 27, 711–20.

Estudio de las piezas de resección tras la neoadyuvancia:

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29
2. Junker K, Thomas M, Schulmann K, Klinker V, Bosse U, Müller KM. Regression grading of neoadjuvant non-small-cell lung carcinoma treatment. *Pathologe*. 1997 Mar; 18(2):131-40.
3. Junker K, Langner K, Klinker F, Bosse U, Thomas M. Grading of tumor regression in non-small cell lung cancer: morphology and prognosis. *Chest*. 2001 Nov; 120(5):1584-91.
4. Junker K. Therapy-induced tumor regression and regression grading in lung cancer. *Pathologe*. 2014 Nov; 35(6):574-7.
5. Pataer A1, Kalhor N, Correa AM, Raso MG, Erasmus JJ, Kim ES, Behrens C, Lee JJ, Roth JA, Stewart DJ, Vaporciyan AA, Wistuba II, Swisher SG; University of Texas M. D. Anderson Lung Cancer Collaborative Research Group. Histopathologic response criteria predict survival of patients with resected lung cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J Thorac Oncol*. 2012 May; 7(5):825-32.
6. William WN Jr, Pataer A, Kalhor N, Correa AM, Rice DC, Wistuba II, Heymach J, et al. University of Texas M.D. Anderson Lung Cancer Collaborative Research Group. Computed tomography RECIST assessment of histopathologic response and prediction of survival in patients with resectable non-small-cell lung cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J Thorac Oncol*. 2013 Feb; 8(2):222-8
7. Junker K. Histopathologic evaluation of mediastinal lymph nodes in lung cancer. *Lung Cancer*. 2004 Aug; 45 Suppl 2:S79-83. Review.

Informe anatomopatológico de la pieza quirúrgica:

1. Jones KD, Churg A, Henderson DW, Hwang DM, Ma Wyatt J, Nicholson AG, Rice AJ, Washington MK, Butnor KJ. Data set for reporting of lung carcinomas: recommendations from International Collaboration on Cancer Reporting. *Arch Pathol Lab Med*. 2013 Aug; 137(8):1054-62.
2. Martini M, Melamed MR. Multiple primary lung cancers. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1975;70(4):606-612.

3. Girard N, Deshpande C, Lau C, Finley D, Rusch V, Pao W, Travis WD. Comprehensive histologic assessment helps to differentiate multiple lung primary nonsmall cell carcinomas from metastases. *Am J Surg Pathol*. 2009 Dec;33(12):1752-64.
4. Edge, S., Byrd, D.R., Compton, C.C., Fritz, A.G., Greene, F.L., Trotti, A. *AJCC Cancer staging handbook*. 7th ed. New York, NY: Springer, 2010: 111-122
5. Travis WT, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC: *World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics. Tumors of the lung, pleura, thymus and heart*. Lyon, France: IARC Press; 2004
6. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011 Feb; 6(2):244-85.
7. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung adenocarcinoma in resected specimens: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2013 May; 137(5):685-705.
8. Cagle PT, Allen TC, Dacic S. et al.- Revolution in lung cancer: new challenges for the surgical pathologist. *Arch Pathol Lab Med*. 2011 Jan;135(1):110-6.
9. Kadota K, Villena-Vargas J, Yoshizawa A, Motoi N, Sima CS, Riely GJ, Rusch VW, Adusumilli PS, Travis WD. Prognostic significance of adenocarcinoma in situ, minimally invasive adenocarcinoma, and nonmucinous lepidic predominant invasive adenocarcinoma of the lung in patients with stage I disease. *Am J Surg Pathol*. 2014 Apr;38(4):448-60.
10. Solis LM, Behrens C, Raso MG, Lin HY, Kadara H, Yuan P, Galindo H, Tang X, Lee JJ, Kalhor N, Wistuba II, Moran CA. Histologic patterns and molecular characteristics of lung adenocarcinoma associated with clinical outcome. *Cancer*. 2012 Jun 1;118(11):2889-99.
11. Cha MJ, Lee HY, Lee KS, Jeong JY, Han J, Shim YM, Hwang HS. Micropapillary and solid subtypes of invasive lung adenocarcinoma: clinical predictors of histopathology and outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014 Mar;147(3):921-928.
12. Hwang I, Park KU, Kwon KY. Modified histologic classification as a prognostic factor in pulmonary adenocarcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2014 May;22(3):212-20.
13. Moreira AL, Joubert P, Downey RJ, Rekhtman N. Cribriform and fused glands are patterns of high-grade pulmonary adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2014 Feb;45(2):213-20.
14. Wang C, Durra HY, Huang Y, Manucha V. Interobserver reproducibility study of the histological patterns of primary lung adenocarcinoma with emphasis on a more complex glandular pattern distinct from the typical acinar pattern. *Int J Surg Pathol*. 2014 Apr;22(2):149-55.
15. Sica G, Yoshizawa A, Sima C: A Grading System of Lung Adenocarcinomas Based on Histologic Pattern is Predictive of Disease Recurrence in Stage I Tumors. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1155–1162
16. Xu L, Tavora F, Burke A. Histologic features associated with metastatic potential in invasive adenocarcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol*. 2013 Jul;37(7):1100-8.

17. Rossi G, Mengoli MC, Cavazza A, Nicoli D, Barbareschi M, Cantaloni C, Papotti M, Tironi A, Graziano P, Paci M, Stefani A, Migaldi M, Sartori G, Pelosi G. Large cell carcinoma of the lung: clinically oriented classification integrating immunohistochemistry and molecular biology. *Virchows Arch.* 2014 Jan;464(1):61-8.
18. Kerr KM. Pulmonary Pathology: SY22-1 Update on large cell carcinomas of the lung. *Pathology.* 2014 Oct;46 Suppl 2:S39
19. Pelosi G, Barbareschi M, Cavazza A, Graziano P, Rossi G, Papotti M. Large cell carcinoma of the lung: A tumor in search of an author. A clinically oriented critical reappraisal. *Lung Cancer.* 2015 Jan 17. pii: S0169-5002(15)00066-5.
20. Hwang DH, Szeto DP, Perry AS, Bruce JL, Sholl LM. Pulmonary large cell carcinoma lacking squamous differentiation is clinicopathologically indistinguishable from solid-subtype adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 May;138(5):626-35.
21. Pelosi G, Papotti M, Rindi G, Scarpa A. Unraveling tumor grading and genomic landscape in lung neuroendocrine tumors. *Endocr Pathol.* 2014 Jun;25(2):151-64.
22. Rindi G, Klersy C, Inzani F, Fellegara G, Ampollini L, Ardizzoni A, Campanini N, Carbognani P, De Pas TM, Galetta D, Granone PL, Righi L, Rusca M, Spaggiari L, Tiseo M, Viale G, Volante M, Papotti M, Pelosi G. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer.* 2013 Dec 16;21(1):1-16.
23. Pelosi G, Rindi G, Travis WD, Papotti M. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol.* 2014 Mar;9(3):273-84.
24. Vallières E, Van Houtte P, Travis WD, Rami-Porta R, Goldstraw P; International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) International Staging Committee. Carcinoma in situ at the bronchial resection margin: a review. *J Thorac Oncol.* 2011 Oct;6(10):1617-23
25. Shimizu K, Yoshida J, Nagai K, et al. Visceral pleural invasion classification in non-small cell lung cancer: a proposal on the basis of outcome assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127(6):1574-1578.
26. Travis WD, Brambilla E, Rami-Porta R, et al. Visceral pleural invasion: pathologic criteria and use of elastic stains: proposal for the 7th edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2008;3(12):1384-1390.
27. Dacic S. Dilemmas in lung cancer staging. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Oct;136(10):1194-7.
28. Gkogkou C, Frangia K, Saif MW, Trigidou R, Syrigos K. Necrosis and apoptotic index as prognostic factors in non-small cell lung carcinoma: a review. *Springerplus.* 2014 Mar 1;3:120.

Biomarcadores con interés predictivo en el carcinoma de pulmón:

1. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12:175-80.
2. Oxnard GR, Binder A, Jänne PA. New targetable oncogenes in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:1097-104.

3. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 2014;511:543-50.
4. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, Kwiatkowski DJ, Iafrate AJ, Wistuba II, Varella-Garcia M, Franklin WA, Aronson SL, Su PF, Shyr Y, Camidge DR, Sequist LV, Glisson BS, Khuri FR, Garon EB, Pao W, Rudin C, Schiller J, Haura EB, Socinski M, Shirai K, Chen H, Giaccone G, Ladanyi M, Kugler K, Minna JD, Bunn PA. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* 2014;311:1998-2006.
5. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101:13306-11.
6. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350:2129-39.
7. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304:1497-500.
8. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-6.
9. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:828-60.
10. Felip E, Concha A, de Castro J, Gómez-Román J, Garrido P, Ramírez J, Isla D, Sanz J, Paz-Ares L, López-Ríos F. Biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer: a National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol*. 2015 Feb;17(2):103-12. DOI: 10.1007/s12094-014-1248-9.
11. Vidal J, Clavé S, de Muga S, González I, Pijuan L, Gimeno J, Remón J, Reguart N, Viñolas N, Gironés R, Bernet L, Majem M, Bosch-Barrera J, Porta R, Alonso N, Palmero R, Taus A, Albanell J, Espinet B, Salido M, Arriola E. Assessment of ALK status by FISH on 1000 Spanish non-small cell lung cancer patients. *J Thorac Oncol* 2014;9:1816-20.
12. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, Marchetti A, Mok T, Novello S, O'Byrne K, Stahel R, Peters S, Felip E; Panel Members; Panel Members. Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2014;25:1681-90.
13. Conde E, Angulo B, Izquierdo E, Paz-Ares L, Belda-Iniesta C, Hidalgo M, et al. Lung adenocarcinoma in the era of targeted therapies: histological classification, sample prioritization, and predictive biomarkers. *Clin Transl Oncol* 2013;15:503-8.
14. Conde E, Angulo B, Tang M, Morente M, Torres-Lanzas J, López-Encuentra A, et al. Molecular context of the epidermal growth factor receptor mutations: evidence for the activation of mTOR/S6K signaling. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 710-17.

15. Yatabe Y, Kosaka T, Takahashi T, Mitsudomi T. EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 633-39.
16. Motoi N, Szoke J, Riely GJ, Seshan VE, Kris MG, Rusch VW, et al. Lung adenocarcinoma: modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 810-27.
17. Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, Plaza C, Martínez R, et al. A comparison of EGFR mutation testing methods in lung carcinoma: direct sequencing, real-time PCR and immunohistochemistry. *PLoS One* 2012; 7: e43842.
18. EGFR-TK mutation testing in adults with locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. NICE diagnostics guidance 9. Available at: <http://guidance.nice.org.uk/nicemedia/live/14251/64893/64893.pdf> (Accessed May 2014).
19. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, Digumarthy SR, Costa DB, Heist RS, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol* 2009;27:4247-53.
20. Conde E, Angulo B, Izquierdo E, Muñoz L, Suárez-Gauthier A, Plaza C, et al. The ALK Translocation in Advanced NSCLCs: Pre-approval Testing Experience at a Single Cancer Center. *Histopathology* 2013;62:609-16.
21. Fan L, Feng Y, Wan H, Shi G, Niu W. Clinicopathological and demographical characteristics of non-small cell lung cancer patients with ALK rearrangements: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9:e100866.
22. FDA clears BioView Duet™ system for automated ALK FISH scanning of lung cancer tissue specimens. Available at: http://www.bioview.co.il/htmls/page_70.aspx?c0=12677&bsp=12624 (Accessed June 2014).
23. Thunnissen E, Bubendorf L, Dietel M, ElMBERGER G, Kerr K, Lopez-Rios F, et al. EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations. *Virchows Arch* 2012;461:245-57.
24. Conde E, Suárez-Gauthier A, Benito A, Garrido P, García-Campelo R, Biscuola M, Paz-Ares L, Hardison D, de Castro J, Camacho MC, Rodriguez-Abreu D, Abdulkader I, Ramirez J, Reguart N, Salido M, Pijuán L, Arriola E, Sanz J, Folgueras V, Villanueva N, Gómez-Román J, Hidalgo M, López-Ríos F. Accurate identification of ALK positive lung carcinoma patients: novel FDA-cleared automated fluorescence in situ hybridization scanning system and ultrasensitive immunohistochemistry. *PLoS One* 2014;9:e107200.
25. Wynes MW, Sholl LM, Dietel M, SchuurinG E, Tsao MS, Yatabe Y, et al. An international interpretation study using the ALK IHC antibody D5F3 and a sensitive detection kit demonstrates high concordance between ALK IHC and ALK FISH and between evaluators. *J Thorac Oncol* 2014;9:631-8.
26. Zwaenepoel K, Van Dongen A, Lambin S, Weyn C, Pauwels P. Detection of ALK expression in NSCLC with ALK-gene rearrangements - comparison of multiple IHC methods. *Histopathology* 2014;65:539-48.
27. Conde E, Taniere P, Lopez-Rios F. The anaplastic lymphoma kinase testing conundrum. *Expert Rev Mol Diagn* 2015;15:161-3.

28. Drilon A, Rekhtman N, Ladanyi M, Paik P. Squamous-cell carcinomas of the lung: emerging biology, controversies, and the promise of targeted therapy. *Lancet Oncol* 2012;13:e418-26.
29. Forde PM, Kelly RJ, Brahmer JR. New strategies in lung cancer: translating immunotherapy into clinical practice. *Clin Cancer Res* 2014;20:1067-73.
30. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, Sosman JA, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014;515:563-7.

Tabla 1. Marcadores inmunohistoquímicos habitualmente utilizados en el diagnóstico de adenocarcinoma (ACA) y del carcinoma de células escamosas (CCE) pulmonar.

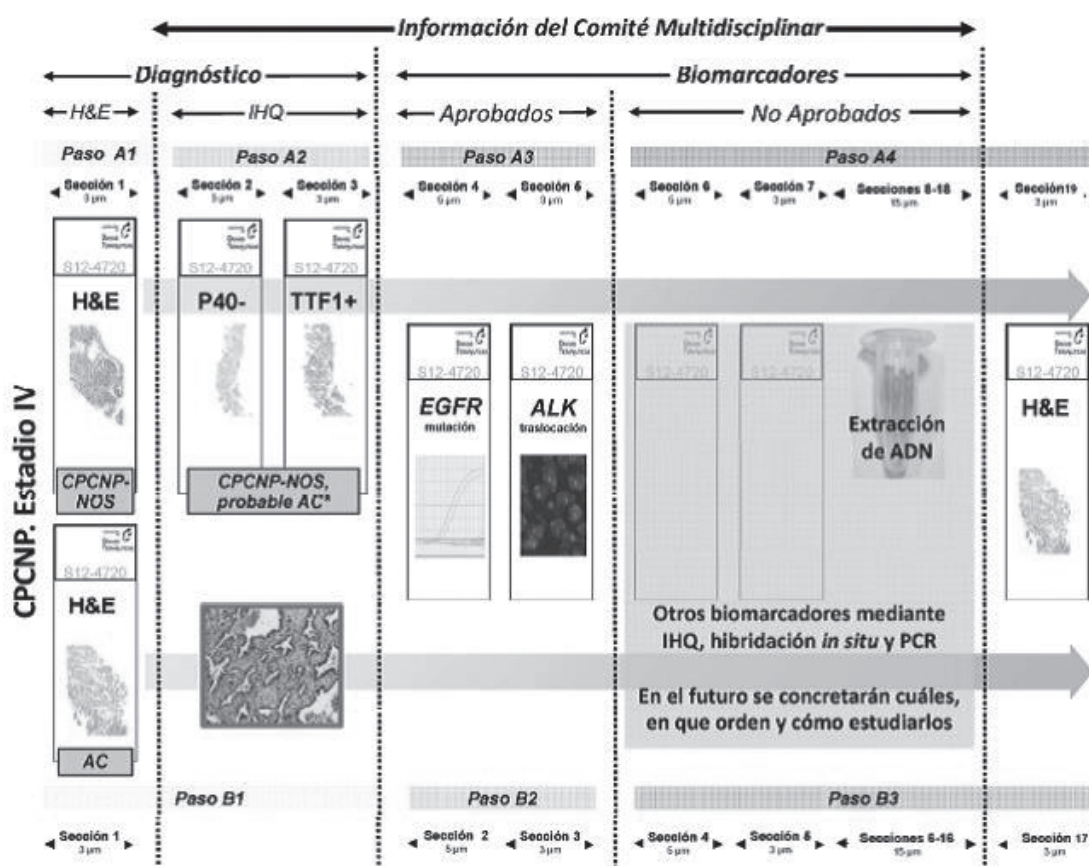
Anticuerpo	Tipo histológico	% positividad	Observaciones
TTF-1	ACA	80	Negativo en mucinosos Positivo carcinomas extrapulmonares
Napsina	ACA	80-85	Negativo en mucinosos Positivo carcinomas extrapulmonares
CK-7	ACA	95-100	Positiva en 10-15% CCE
P63	CCE	>90	Positiva en 20% de ACA
P40	CCE	99-100	Positiva en 7-8% de ACA
CK 5-6	CCE	80	Positiva en 5% de ACA

Tabla 2. Sistema de clasificación de la regresión tumoral

Grado 1	No hay respuesta, o sólo espontánea
Grado 2 A	Más del 10% del tumor viable
Grado 2 B	Menos del 10% del tumor viable
Grado 3	Respuesta completa

* El porcentaje de la necrosis inducida por el tratamiento se debe estimar microscópicamente

Figura 1. Protocolo para el estudio de biomarcadores en muestras de pacientes con CPCNP avanzado (Tomada de Clin Transl Oncol 2014, a su vez modificada de Clin Transl Oncol 2013;15: 503-508).



La ruta superior (A) es para casos que requieran IHQ clasificatoria. La ruta inferior (B) se aplicaría en muestras en donde no es necesario este paso, al objetivarse claramente diferenciación glandular con la H&E.

AC: adenocarcinoma; ADN: ácido desoxirribonucleico; ALK: kinasa del linfoma anaplásico; CPCNP: carcinoma de pulmón de célula no pequeña; EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico; H&E: hematoxilina-eosina; IHQ: inmunohistoquímica; NOS: (de tipo) no especificado; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA ULTRAESTRUCTURAL

Introducción

Josep Lloreta Trull, coordinador del club

Correspondencia: jlloreta@parcdesalutmar.cat

La aplicación de la microscopía electrónica en Anatomía Patológica se ha visto limitada por razones de tipo científico y sobre todo, de tipo económico, estratégico y coyuntural. La información ultraestructural sigue siendo relevante en múltiples situaciones, aun a pesar de que su papel ha disminuido o se ha redefinido con la aparición de nuevos conocimientos sobre las enfermedades y de nuevos métodos y estrategias para su diagnóstico. La mayoría de los servicios de Anatomía Patológica carecen de microscopio electrónico y de personas formadas en este campo. Por consiguiente, se impone la creación de una red de laboratorios de microscopía electrónica que puedan proporcionar el diagnóstico ultraestructural en todos los casos que lo requieran. Por otra parte, se hace necesario revisar y difundir entre todos los patólogos las indicaciones actuales de esta técnica y su impacto clínico. Este capítulo pretende ser un eslabón en la consecución de dichos objetivos. Hasta no hace mucho, no tener microscopía electrónica era un factor negativo. No hay duda de que en la actualidad sigue constituyendo un valor añadido disponer de ella.

Patología Ultraestructural: estado actual y propuestas de futuro

Josep Lloreta Trull ⁽¹⁾, Esther Roselló Sastre ⁽²⁾, Miguel Ángel Martínez González ⁽³⁾, Eduardo Vázquez-Martul ⁽⁴⁾, María Teresa Tuñón Álvarez ⁽⁵⁾, Carmen Navarro Fernández-Valbuena ⁽⁶⁾ y los miembros del Club de Patología Ultraestructural

(1) Hospital del Mar, Barcelona

(2) Hospital General Universitario de Castelló

(3) Hospital Universitario Doce de Octubre, Madrid

(4) Hospital Universitario de Coruña

(5) Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona

(6) Complejo Hospitalario Universitario de Vigo

I. SITUACIÓN ACTUAL Y CONTEXTO HISTÓRICO

La aplicación de la microscopía electrónica (ME) en Anatomía Patológica ha experimentado un notable descenso en las últimas décadas. Ello se ha debido a la aparición de otras técnicas, como la inmunohistoquímica, en apariencia más sencillas y económicas, y sin duda aplicables de manera más generalizada en la mayor parte de laboratorios. En este contexto, se ha tendido a omitir el uso de la ME en situaciones en las que es de gran utilidad e incluso, en ciertos casos, es la principal o la única técnica que permite efectuar un determinado diagnóstico.

Existen todavía bastantes centros dotados de equipos de ME. En el ámbito sanitario, los servicios de Anatomía Patológica con un entorno académico de una cierta envergadura suelen contar con un laboratorio de ME. Suele tratarse de hospitales que disponen de centro de investigación o asociados a instituciones universitarias. En dos encuestas recientes, una de ellas de carácter general y otra centrada en patología renal, se ha identificado que unos 25 servicios de Anatomía Patológica de España tienen disponibilidad de un microscopio electrónico, en ocasiones adscrito a la Universidad correspondiente y casi siempre en buen estado de funcionamiento. No obstante, en las dos últimas décadas, han desaparecido algunos de estos laboratorios. Las causas de ello han sido el envejecimiento y la imposibilidad de reposición del equipo, la falta de recursos económicos para su mantenimiento, la priorización de otras inversiones y la falta de personal técnico o de patólogos jóvenes con formación en este campo. En cambio, las unidades de ME que siguen en activo lo son porque el Servicio de Anatomía Patológica dispone de personal cualificado y entrenado y porque se destinan recursos para su mantenimiento.

Para la óptima rentabilización de un laboratorio de ME, es ideal que se reciban los estudios ultraestructurales de otros hospitales de su entorno, además de implicarse en la docencia y la investigación. En este sentido, una apuesta estratégica que cabe plantearse es la creación de una red de laboratorios de referencia de ME que presten servicio en su entorno y que estén coordinados entre sí.

II. TIPOS DE MUESTRA

Los resultados de mejor calidad en M.E. se obtienen en muestras fijadas en glutaraldehído al 2,5% en tampón cacodilato o en solución de Karnovsky. Las muestras deben obtenerse en el menor plazo de tiempo posible desde la extracción del tejido, minimizando la compresión y evitando la desecación. Hoy en día, es frecuente que la necesidad de efectuar un estudio ultraestructural de un caso se detecte cuando ya la muestra está fijada en formol o incluida en parafina. Este hecho no impide llevar a cabo el estudio y, aunque con menor calidad de imagen y con una variable pérdida de información, puede obtenerse datos de gran valor diagnóstico incluso en este tipo de muestras. En esta situación, los mejores resultados dependen también de la inmediatez de la fijación previa en formol, de la calidad del fijador, del tiempo de fijación, de la temperatura de la parafina y del tiempo de permanencia en la misma.

La mayor parte de muestras son fragmentos sólidos pero pueden procesarse también sangre y otros líquidos, como el ascítico o el pleural, muestras de citología por aspiración con aguja fina, muestras de cepillado bronquial o nasal, etc.

III. TIEMPOS DE RESPUESTA

El hecho de que el proceso técnico y el examen al microscopio electrónico sigan un curso distinto que el resto de muestras, unido al hecho de que en general se concentra la inclusión entre uno y dos días a la semana y cada quince días, hacen que a menudo los resultados de la ME se demoren más allá de lo deseable. Aun así, los resultados pueden ser de gran trascendencia para el diagnóstico y el tratamiento. No obstante, debe tenderse a mejorar los tiempos de respuesta. Es relativamente sencillo, sin grandes ajustes técnicos, disponer de resultados en el plazo de una semana. Por otro lado, en función de la urgencia y las necesidades, es posible tener las muestras preparadas para estudio en una semana y, si es muy necesario, en 24-36 horas. De hecho, existen métodos de procesado rápido que permiten obtener cortes a las 4-6 horas de la llegada del tejido al laboratorio. Un importante factor limitante es la disponibilidad de tiempo por parte del patólogo.

La centralización de los laboratorios de ME permitiría destinar un patólogo al diagnóstico ultraestructural. También podría mejorar la dinámica el incorporar a los técnicos a la observación de casos al ME y la obtención de series de imágenes representativas para ser valoradas posteriormente por el patólogo responsable.

IV. COSTOS

El costo de un estudio de ME varía en función del número de casos a estudiar por año. En un cálculo que incluye procesar 500 biopsias, cortarlas, mirarlas e informarlas, además de la amortización del microscopio electrónico y de sus contratos de mantenimiento por espacio de 20 años, es de unos 150-180 €.

V. INDICACIONES

Existen muchas situaciones en las que puede aplicarse la ME para mejorar la precisión de un diagnóstico. A continuación, se resumen algunas de las más importantes.

- *Enfermedades renales:*

- Nefropatía de cambios mínimos y otras podocitopatías.
- Enfermedades de la membrana basal (membrana basal fina, enfermedad de Alport).
- Glomerulonefritis en fases iniciales (mesangial, membranosa, membranoproliferativa, en especial por depósitos densos, Goodpasture, enfermedad de las cadenas ligeras, MAT, etc).
- Glomerulopatías con depósitos estructurados, en especial, en fases iniciales (amiloidosis, fibrilar, inmunotactoide, etc).
- Clasificación precisa de la afección glomerular en el lupus eritematoso.
- Patología glomerular del trasplante y multilaminación de membranas basales de los capilares peritubulares.

- Casos sin glomérulos disponibles en el material para inmunofluorescencia directa.
- Tubulopatías hereditarias mitocondriales.
- *Enfermedades del cilio y del flagelo*
 - Se prefiere, para las primeras, una muestra obtenida de mucosa nasal con un cepillo de cepillado bronquial. La muestra debe ser profunda y debe evitarse obtenerla si el paciente presenta síntomas o signos de infección. Los flagelos de los espermatozoides pueden investigarse de modo similar en estudios de esterilidad.
 - Se ha descrito ya una serie de alteraciones moleculares asociadas con pérdida de alguna de las estructuras del citoesqueleto ciliar, en particular la pérdida de uno o los dos brazos de dineína. Si bien existen pruebas funcionales como el NO o el examen de movilidad ciliar en fresco (in vivo/ ex vivo), el diagnóstico de discinesia ciliar primaria sigue siendo ultraestructural y puede corroborarse por estudios moleculares.
- *Enfermedades neuromusculares*
 - Miopatía mitocondrial.
 - Miopatías congénitas (nemalínica, enf. de cores centrales, miopatía miotubular).
 - Miositis con cuerpos de inclusión.
 - Miopatías miofibrilares (desminopatías, miotilinoopatías, asociadas a ZASP, etc).
 - Distrofia muscular oculofaríngea.
 - Miopatías metabólicas (glucogenosis y por acúmulo de lípidos: Fabry, Danon, etc).
 - Neuropatías axonales, desmielinizantes y mixtas.
 - Neuropatía tomacular.
- *Biopsias cerebrales*
 - Enfermedad de Whipple.
 - Ceroidlipofuscinosi.
- *Biopsias de miocardio*
 - Miocardiopatías hipertróficas.
 - Tóxicas (Cloroquina, etc.)
- *Patología hepática:*
 - Enfermedades por depósito: Enfermedad de Lafora, glucogenosis.
 - Inducidas por fármacos, cianamida, antabús.
- *Patología cutánea*
 - Epidermolisis ampollosas congénitas.
 - Epidermolisis ampollosa adquirida.
 - Alteraciones de fibras colágenas y elásticas (cutis laxa, Ehlers-Danlos, etc).
 - Ictiosis.
 - CADASIL.
 - Enfermedades de depósito. Además de la piel, se estudian en ocasiones otros tipos de muestras (músculo, nervio).
- *Patología infecciosa*
 - Distinción entre artefactos y microorganismos (p.e. en núcleos claros esmerilados).
 - Identificación y clasificación taxonómica de virus en pequeñas cantidades.
 - Identificación de protozoos: Microsporidio, Criptosporidio, Isospora, Toxoplasma, Leishmania, etc, en especial cuando son escasos o pueden simular cuerpos apoptóticos.
 - Identificación de bacterias en situaciones especiales como la espiroquetosis intestinal, la enfermedad de Whipple o la angiomatosis bacilar.
 - Control de la respuesta al tratamiento de estas infecciones.
 - Estudio inicial de orientación diagnóstica para indicar técnicas moleculares o inmunohistoquímicas específicas.
- *Patología tumoral*
 - *Situaciones generales:*
 - Casos con resultados contradictorios en la inmunohistoquímica.

- Casos con inmunohistoquímica pobre (p.e. sólo vimentina) o con marcadores diagnósticos muy escasos no detectables por inmunohistoquímica (melanosomas, gránulos neuroendocrinos, sarcómeras, desmosomas, etc).
- Casos de fenotipo incierto o indiferenciados en el estudio con el microscopio óptico.
- Como control de calidad en casos ya diagnosticados.
- *Diagnósticos diferenciales con criterios ultraestructurales útiles:*
 - Mesotelioma-adenocarcinoma.
 - Tumores de células acinares (páncreas, glándula salival).
 - Tumores de células pequeñas: rabdomiosarcoma, carcinoma de células pequeñas, tumor de Ewing, PNET, tumor desmoplásico de células redondas.
 - Carcinoma de células “no pequeñas” de pulmón: identificación de diferenciación glandular.
 - Tumores con diferenciación mioepitelial y miofibroblástica.
 - Tumores neuroendocrinos, neuroectodérmicos o neuroblásticos.
 - Tumores de células secretoras de esteroides.
 - Tumores eosinofílicos renales: oncocitoma vs. carcinoma cromóforo, carcinoma de células claras o carcinoma cromofílico papilar.
 - Tumores epitelioides de tejidos blandos: sarcoma sinovial, sarcoma epitelioides, sarcoma alveolar de partes blandas, tumores vasculares epitelioides.
 - Cordomas y condrosarcomas.
 - Tumores con diferenciación melanocítica: melanoma, angiomiolipoma epitelioides, tumores pigmentados de tejidos blandos y de sistema nervioso central.
 - Tumores endodermiales, meníngeos y neuronales del sistema nervioso.

VI. PERSPECTIVAS DE FUTURO

Desde el Club de Patología Ultraestructural, se formulan dos directrices para el futuro:

1. Fomentar el entrenamiento de nuevas generaciones de técnicos y patólogos en ME.
2. Crear redes estructuradas de hospitales dotados de microscopio electrónico, que sirvan de referencia a los hospitales que no dispongan de esta infraestructura, agrupados por proximidad geográfica o por necesidades temáticas específicas (por ejemplo, biopsia renal o muscular).

De esta manera se optimizarían los recursos humanos e instrumentales dedicados al diagnóstico ultraestructural y se generarían recursos económicos para el mantenimiento de las instalaciones y equipos. Lo que es más importante, se conseguiría mejorar la precisión diagnóstica en muchos casos que, en la actualidad, por falta de disponibilidad de esta herramienta, quedan incompletos o no se clasifican de la manera más correcta posible. En última instancia, todo ello redundaría en una mejora de la calidad asistencial y, como consecuencia, en un beneficio para los pacientes.

RECOMENDACIONES DEL CLUB DE PATOLOGÍA UROLÓGICA

Introducción

Pilar González-Peramato, coordinadora del club

Correspondencia: mpilar.gonzalezperamato@salud.madrid.org

Estas recomendaciones suponen una actualización de la edición anterior realizada por los miembros del Club de Patología Urológica en 2001. En ellas se aborda el manejo anatomopatológico de los diferentes tipos de muestras de patología urológica: riñón, vías urinarias, próstata, testículo y pene. Las biopsias y piezas quirúrgicas de urología suponen hoy día un porcentaje importante en la carga de trabajo de la muchos Servicios de Anatomía Patológica.

Los patólogos tenemos la importante misión de proporcionar toda la información pronóstica posible que ayude a los clínicos a orientar la mejor estratificación de la terapia de acuerdo con el riesgo de recidiva, progresión o metástasis, de manera que los pacientes puedan beneficiarse, si lo necesitan, de la amplia terapia adyuvante hoy disponible en el camino hacia la terapia personalizada. Por ello, el objetivo de estos protocolos es precisar el mejor itinerario a seguir en el estudio sistemático de los diferentes tipos de muestras en patología urológica así como establecer el protocolo de estudio macroscópico y microscópico de éstas muestras que sirva de guía para el diagnóstico, gradación y estadificación de los diferentes tipos de cáncer urológico. Además, refieren los datos que deben figurar en el informe anatomopatológico, con la finalidad de que éstos sean lo más claros, precisos y uniformes posible reflejando toda la información relevante y clínicamente útil para el posterior manejo de los pacientes y mejor comunicación con los urólogos.

Los miembros del Club de Patología Urológica autores de los diferentes protocolos han elaborado estas guías con el fin de ayudar a los patólogos, tanto generales como los especialmente dedicados a la uropatología, a sistematizar el manejo de este tipo muestras basado en su dilatada experiencia profesional y en datos científicos producto de la revisión de la literatura y reflejo de consensos internacionales de la comunidad científica uropatológica. En ellos se indican los mínimos recomendables, que deben ser adaptados por los patólogos según su práctica individual e institucional, de acuerdo a los medios disponibles.

Quiero terminar agradeciendo la colaboración y el esfuerzo realizado por todos los autores para la elaboración de estas guías y el apoyo de la SEAP en su promoción, edición y difusión.

RECOMENDACIONES PARA EL ESTUDIO DEL CÁNCER UROLÓGICO.

Consenso del Club de Patología Urológica de la Sociedad Española de Anatomía Patológica 2015.

Índice

- PROTOCOLOS DE LAS PIEZAS DE NEFRECTOMÍA
- PROTOCOLOS DE VÍA URINARIA
- PROTOCOLOS DEL CANCER DE PROSTATA
- PROTOCOLOS DE MUESTRAS DE TESTÍCULO
- PROTOCOLO DE MUESTRAS DE PENE

Protocolos de las Piezas de Nefrectomía

Ferrán Algaba

Fundació Puigvert, Barcelona.

Los datos a referir en las distintas muestras tienen como objetivo la precisión en el diagnóstico, para ello se deben incluir tanto información anátomo-patológica como del modo en que se ha recibido la muestra.

De esta forma los datos recomendados en las diferentes piezas son:

I. NEFRECTOMÍA (PARCIAL O TOTAL) POR TUMOR EN EL PARÉNQUIMA

Inspección macroscópica

- Tipo de pieza remitida: Tumorectomía, nefrectomía parcial, nefrectomía total.
- Forma en que ha sido remitida la muestra (en fresco, fijada, seccionada...).
- Identificaciones remitidas (lado, zona de procedencia-en caso de resecciones parciales, estructuras incluidas), y en caso de carecer de dichas identificaciones mencionarlo en el dictamen.
- Si se recibe en fresco es recomendable no decapsular ni extraer el tejido adiposo en contigüidad con la pieza, haciendo los cortes a través de él. Una vez inspeccionada la superficie y comprobada la relación riñón/tejido adiposo se puede decapsular si no hay ninguna área adherida, y realizar secciones longitudinales paralelas de 1 cm. de grosor para una correcta fijación con formol durante toda la noche.

Descripción macroscópica

- Los tejidos incluidos (*suprarrenal, tejido adiposo, longitud del uréter*)
- Peso y diámetros máximos del riñón (*sin el tejido adiposo*)
- Aspecto externo, con especial referencia a la masa tumoral y sus posibles nódulos satélites, si se identifican externamente.
- Aspecto de la masa (s) tumoral (es) al corte:
 - Localización (polos, tercio medio), cortical, medular, ambas.
 - Forma y diámetros máximos.
 - Coloración y aspecto
 - Delimitación del entorno (parénquima y tejido adiposo)
 - Estado del seno renal y relación con la vía intrarrenal (cálices, pelvis y uréter)
- Características del parénquima no tumoral
- Características de las vías.
- Estado de las estructuras del hilio renal (vena y arteria).
- Aspecto externo y al corte de la suprarrenal, si está incluida.
- Ganglios, si son reconocibles, número y tamaño.
- En nefrectomías parciales aspecto de la superficie quirúrgica

Los márgenes de resección deben ser marcados con tinta china en las exéresis parciales. En las resecciones totales sólo se han de marcar las superficies quirúrgicas sospechosas a la inspección macroscópica.

Selección de las secciones

- El muestreo del tumor debe incluir todas las zonas que destaque en especial. Incluirlo en su totalidad si mide de 2 a 3 cm., y en los tumores mayores al menos una sección por cada centímetro del diámetro máximo de la masa.
- Los nódulos satélites, si existen, también se han de tomar para el estudio microscópico. En caso de que excedan de un número prudencial (más de 5 o 6) se pueden tomar muestras de los mayores y de los menores, en caso de un aspecto macroscópico diferente.
- Muestras del tejido adiposo (perirenal y del seno renal) si están próximos al tumor
- Las muestras de la vía deben ser representativas de la pelvis y del uréter, escogiendo aquellas áreas con lesión, si la hubiere.
- La muestra de la vena es obligada si hay un trombo, o sospecha de él, siendo facultativa su toma en ausencia de él (*pero es aconsejable porque es la mejor forma de tener un documento de la ausencia de invasión venosa*).
- La suprarrenal, debe ser incluida entre las muestras
- Se han de tomar un mínimo de 2 secciones del parénquima normal (próximo y alejado del tumor)
- Aunque el urólogo no remita el tejido adiposo (con eventuales ganglios) por separado, siempre debe extraerse la grasa de alrededor del hilio e incluir los ganglios que se encuentren.
- En las resecciones parciales deben hacerse cuatro secciones (como mínimo) en cruz del límite quirúrgico, y como es obvio especialmente de aquellas áreas más próximas al tumor
- Clave de las secciones escogidas, si se cree oportuno.
- La toma de material fresco para congelar es facultativa, siendo recomendable (en los centros en los que no se toma de forma sistemática) en los tumores de pacientes de 20 años o menos (posibles carcinomas de translocación), y en casos de sospecha o certeza de carcinomas familiares.

Descripción microscópica

Es facultativa, aunque recomendable, pues ayuda a la precisión de la observación microscópica, sobretodo en centros con formación de residentes.

En caso de hacerse debe indicarse:

- El tipo celular de la neoplasia, con sus variaciones y el porcentaje de ciertos subtipos (por ejemplo el sarcomatoide). Patrón de crecimiento, tamaño nuclear y presencia de nucleolos.
- Presencia y extensión de necrosis, especialmente en los no papilares.
- Su relación con el parénquima no tumoral y el tejido adiposo (perirrenal o del seno renal).
- La invasión microvascular o perineural.
- El estado del límite quirúrgico.
- Las características de las posibles lesiones tumorales satélites
- El estado del parénquima no tumoral, con especial interés en las posibles lesiones precursoras de la neoplasia.
- Estado del hilio renal.
- Estado de la suprarrenal (si está incluida).
- En caso de hallar ganglios con metástasis, medir la metástasis y valorar su eventual extensión al tejido adiposo de alrededor.

Inmunohistoquímica recomendada

En la mayoría de los casos no se precisa ningún estudio adicional para determinar la naturaleza de la neoplasia.

- En caso de dudar si es una neoplasia renal o una metástasis el marcador más usado es el PAX8

- Para determinar el tipo celular no existe ningún marcador específico por lo que es recomendable utilizar un panel orientado según el tipo celular observado, siendo los marcadores más recomendables: CAIX (claras), AMACR (papilares y translocación), c-kit (cromóforas oncocitoma), CK7, 34βE12, HMB45, CD10, Cathepsina K, TFE3, WT1.
- No existen marcadores pronósticos o de diana, suficientemente probados.

Diagnóstico

Ha de ser concreto, con términos precisos, si la patología tiene una nomenclatura concreta, o descriptivos, si carece de ellos.

Debe incluir:

- El tipo celular de la neoplasia.
- El grado de diferenciación tumoral.
- La extensión y el tamaño del tumor. Categoría pT.
- La presencia de invasión microvascular peritumoral y/o del seno renal
- El estado de los márgenes
- Las lesiones del parénquima no tumoral

II. CLASIFICACIONES RECOMENDADAS EN LA PATOLOGÍA NEOPLÁSICA DEL PARÉNQUIMA RENAL

- Para la clasificación de los **tipos celulares** se recomienda las variaciones realizadas por la ISUP a la clasificación del 2004 de la OMS. En breve se editará la actualización de la OMS que muy probablemente seguirá estas mismas directrices.
- Para la evaluación del **grado** se ha de tener en cuenta el subtipo histológico:
 - En los carcinomas de células claras se recomienda la gradación de Fuhrman, con especial atención al grado nucleolar de la ISUP
 - Para los carcinomas papilares el grado nucleolar de ISUP.
 - Los carcinomas cromóforos no se gradan y sólo debe referirse en caso de que haya áreas anaplásicas y/o sarcomatoides.
 - Los nuevos subtipos no se gradan a excepción de que hayan áreas anaplásicas o sarcomatoides.
- Para la **extensión** se recomienda el TNM de la UICC, séptima edición.
- En los **tumores renales de la infancia** se recomienda adaptar la terminología y la valoración de los factores pronósticos a los protocolos terapéuticos que se sigan en el centro. Las directrices más usadas son las del National Wilms Tumor Study (NWTs) (5), y las del la Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP) (6).

III. NEFRECTOMIA PARCIAL O TOTAL POR PATOLOGÍA NO TUMORAL

Descripción macroscópica

Los datos que deben reflejarse son:

- La referencia de donde nos indican que procede la muestra, y los tejidos acompañantes.
- El peso y los tres máximos diámetros.
- El aspecto externo y al corte.
- Las características de la vía urinaria incluida en la muestra.

Debemos tener en cuenta la causa que ha motivado la extirpación quirúrgica, para buscar aquellos aspectos anátomo-patológicos peculiares de dicha patología.

Selección de las secciones

- Toda zona que se diferencie de lo normal debe ser escogida.

- Si el aspecto es homogéneo estará indicada una sección por grupo calicular representado en la muestra, que incluya cortical, medular y tejido del seno renal.
- Clave de la procedencia de las secciones escogidas si se cree oportuno.

Descripción microscópica

En caso de hacerse la descripción microscópica es recomendable indicar el estado de:

- La cortical, haciendo referencia al estado de los glomérulos, túbulos, intersticio y vasos, aunque sus cambios no tengan relación con la patología principal
- La medular, resaltando aquellos datos que puedan relacionarse con la patología principal.
- La vía urinaria y el tejido del seno renal

BIBLIOGRAFÍA

1. Trpkov K, Grignon DJ, Bonsib SM, Amin MB, Billis A, Lopez-Beltran A, Samaratunga H, Tamboli P, Delahunt B, Egevad L, Montironi R, Srigley JR; members of the ISUP Renal Tumor Panel. Handling and staging of renal cell carcinoma: the International Society of Urological Pathology Consensus (ISUP) conference recommendations. *Am J Surg Pathol.* 2013 ;37:1505-17.
2. Algaba F, Trias I, Scarpelli M, Boccon-Gibod L, Kirkali Z, Van Poppel H. Handling and pathology reporting of renal tumor specimens. *Eur Urol.* 2004 ;45:437-43.
3. Algaba F, Delahunt B, Berney DM, Camparo P, Compérat E, Griffiths D, Kristiansen G, Lopez-Beltran A, Martignoni G, Moch H, Montironi R, Varma M, Egevad L. Handling and reporting of nephrectomy specimens for adult renal tumours: a survey by the European Network of Uropathology. *J Clin Pathol.* 2012; 65:106-13.
4. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, Hes O, Moch H, Montironi R, Tickoo SK, Zhou M, Argani P; ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2013;37:1469-89.
5. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, Egevad L, Algaba F, Moch H, Grignon DJ, Montironi R, Srigley JR; Members of the ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. *Am J Surg Pathol.* 2013 ;37:1490-504.
6. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, Hes O, Moch H, Montironi R, Tickoo SK, Zhou M, Argani P; ISUP Renal Tumor Panel. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2013 ;37:1469-89.
7. Beckwith JB. The National Wilms Tumor Study: An update for pathologists. *Pediatr.Dev. Pathol.* 1998; 1: 79-84.
8. Boccon-Gibod LA.: Pathological evaluation of renal tumours in children: Interbnational Society of Pediatric Oncology Approach. *Pediatr. Dev Pathol.* 1998; 1: 243-248.
9. TNM classification of malignant tumours. Editores LH Sobin, Ch. Wittekind. Editorial Spingrer 2010
10. Reuter VE, Argani P, Zhou M, Delahunt B; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the kidney tumors: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol.* 2014 ;38:e35-49.

Protocolos de Vía Urinaria

Isabel Trias ⁽¹⁾, Ainara Azueta ⁽²⁾, David Ramos ⁽³⁾

(1) Hospital Plató, Barcelona

(2) Hospital Marqués de Valdecilla, Santander

(3) Hospital La Fe, Valencia.

I. RECOMENDACIONES DE ENVÍO DE MUESTRAS

El envío óptimo para cualquier pieza de resección es en fresco. Cuando esto no sea posible se puede pactar con los cirujanos la apertura y la fijación en el quirófano. Si se toman muestras para estudios moleculares, banco de tumores, etc... debe quedar reflejado en el informe. En ningún caso este procedimiento debe interferir en el diagnóstico.

Para todas las piezas que incluyen mucosa no tumoral es mandatorio tomar secciones representativas ya que la presencia de carcinoma in situ tiene mucho valor pronóstico en los carcinomas uroteliales de cualquier localización.

II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

URETRA (uretrectomía parcial/total)

Se recomienda abrir longitudinalmente la pieza quirúrgica y pintar el margen circunferencial con tinta china. Tras ello, fijar las biopsias o piezas quirúrgicas lo antes posible.

La descripción macroscópica debe de incluir:

- Indicación de la localización del segmento remitido:
 - **Uretra masculina**:- Peneana, bulbomembranosa, prostática o no puede ser precisada.
 - **Uretra femenina**: Anterior, posterior o no puede ser precisada.
- Tejidos incluidos en la pieza quirúrgica además de la uretra: Tejido adiposo, cuerpo esponjoso, cuerpo cavernoso...
- Longitud de la pieza quirúrgica (indicar si es en fresco o tras la fijación de la misma).
- Aspecto externo.
- Descripción de la tumoración:
 - Tamaño y forma: dar el mayor tamaño.
 - Distancia a los bordes quirúrgicos.
 - Estado de los tejidos subyacentes y del límite circunferencial.
 - Aspecto de la mucosa plana (no tumoral) si la hay.

Selección de secciones (especificar localización si se cree oportuno):

- La tumoración debe de estar representada en todo su espesor, para poder definir el nivel de extensión, incluyendo el límite circunferencial (previamente marcado con tinta china).

- Es recomendable incluir toda la tumoración si ésta mide hasta 2cm., si es mayor es suficiente una sección por centímetro del diámetro máximo y como es habitual incluir aquella zona que macroscópicamente sugiera una mayor infiltración.
- Se recomienda tomar muestras de la mucosa plana, no tumoral y de aquellas zonas de aspecto peculiar.
- Tomar los límites quirúrgicos anatómicos.

VEJIGA.

A. Resección transuretral (RTU) vesical.

La manipulación de cualquier muestra empieza en el quirófano, especialmente cuando nos referimos los tejidos obtenidos por RTU. Por lo tanto es importante transmitir a los servicios de urología que forman parte del resultado final del informe de anatomía patológica.

El papel del urólogo:

- Fijación inmediata de las biopsias pequeñas.
- Obtención de RTU de tumor vesical por partes identificadas según la profundidad, especialmente importante en casos de tumores extensos.
- En casos de tumores multifocales se debería incluir muestras del detrusor, al menos de la lesión de mayor tamaño.
- Informar al patólogo en caso que se haya reservado muestras para otro tipo de estudios (moleculares, de investigación, etc...)

El papel del patólogo:

Puesto que en muchos casos el material procedente de RTU de tumor vesical se recibe en un único frasco se debe proceder de la siguiente manera:

- Pesar y medir la totalidad en conjunto los fragmentos y luego incluir hasta un máximo de 10 cassettes.
- No debemos llenar excesivamente los cassettes para que las secciones sean realmente representativas del tejido procesado.
- En caso que el estudio microscópico revele un carcinoma no invasor, invasión del tejido subepitelial o no se identifiquen muscular propia, debe incluirse el material restante en su totalidad.
- En caso de recibir muestras por separado deben procesarse para poder informar cada una de ellas también por separado.

Biopsias pequeñas:

En algunos centros está protocolizada la obtención de las muestras de la mucosa plana no tumoral y estas pueden remitirse en el mismo frasco o por separado. En este último caso la manipulación de las mismas puede hacerse en un mismo cassette siempre que después podamos identificar la procedencia de los fragmentos y realizar el informe de cada uno de ellos.

B. Piezas de resección

1. CISTOPROSTATECTOMÍA RADICAL/CISTECTOMÍA RADICAL.

La descripción macroscópica debe incluir cada uno de los apartados aunque no se observen anomalías.

- Orientación: La vejiga urinaria está parcialmente recubierta por peritoneo que se extiende más distalmente en la cara posterior. Esto resulta muy útil para orientar la pieza.
- Identificación de estructuras anatómicas relevantes: uréteres distales (en fresco se visualizan mejor), deferentes, próstata y vesículas seminales en el hombre, útero y vagina en la mujer.
- Apertura: debe abrirse en fresco por la cara anterior desde la uretra hasta la cúpula y fijarse en formol lo más rápido posible. Esta maniobra puede hacerla el urólogo en el quirófano. Una vez abierta la mucosa se puede evertir para observar mejor alteraciones en la mucosa.
- Inspección de la mucosa consignando cualquier cambio (tumor, úlcera, induración, etc...). La descripción debe incluir número de tumores, tamaño y localización. También debe estudiarse el aspecto del

- trígono y los meatos ureterales. Consignar la presencia de divertículos o cualquier otra alteración.
- Descripción del estado de la pared vesical y tejido pericístico en relación al tumor.
- Descripción de la próstata y vesículas seminales en relación al tumor.
- Descripción de órganos ginecológicos en relación al tumor.
- Descripción de cualquier otro órgano incluido en la pieza de resección y su relación con el tumor.

Selección de las secciones:

- Deben tomarse sistemáticamente los márgenes de resección de la vía (secciones transversales de uretra distal y uréteres en su porción más proximal), de las partes blandas pericísticas (tejido adiposo), o de los órganos adyacentes siempre que se sospeche invasión (vagina, útero, próstata). Es recomendable pintar con tinta china los márgenes de próstata y del tejido pericístico ya que facilita luego la valoración microscópica.
- Es posible que los márgenes de resección ureterales se envíen aparte. En este caso no es necesario tomarlos de la pieza de resección.
- Efectuar cortes del tumor (tantas secciones como centímetros de diámetro máximo) buscando la zona de máxima invasión macroscópica. En ocasiones únicamente se observan cambios atribuibles a resección previa (zona ulcerada, aplanada e indurada). En estos casos debe efectuarse una inclusión total de la zona sospechosa. Estudio del estado del peritoneo y de los órganos incluidos en la pieza en relación al tumor.
- Muestreo extenso de mucosa plana no tumoral (paredes laterales, zona de trígono, cuello vesical y cúpula).
- Inspección de la grasa perivesical. Puede haber ganglios linfáticos.
- El estudio de próstata y útero y vagina, en caso que no se detecten alteraciones relevantes, debe incluir al menos uretra prostática en relación con el parénquima prostático adyacente, zona periférica de ambos lóbulos y vesículas seminales en el hombre y secciones de útero y vagina en la mujer según protocolos estandarizados para estos órganos. Otros órganos, si los hubiere, deben manipularse siguiendo las indicaciones habituales para cada uno de ellos.
- En caso que la pieza incluya uraco debe procederse según el protocolo establecido.

2. CISTECTOMÍA PARCIAL, DIVERTICULECTOMÍAS (EXCEPTO CÚPULA)

Las piezas de cistectomía parcial deben de extenderse y fijarse sobre una superficie dura, y los bordes quirúrgicos (laterales y profundo) marcarse con tinta china.

Descripción macroscópica:

- Aspecto de la mucosa.
- Características del tumor/es, incluyendo tamaño y número así como la distancia a los bordes quirúrgicos laterales y profundos.
- Aspecto de la pared muscular subyacente.

Selección de las secciones (especificar localización si se cree oportuno).

- Incluir al menos cuatro secciones del tumor (en cruz), en continuidad con los bordes quirúrgicos laterales y profundo.
- Representación de la mucosa plana no tumoral.
- Estado de la mucosa plana en relación a los bordes quirúrgicos.

3. CISTECTOMÍA DE CÚPULA VESICAL.

- Es una variante de la cistectomía parcial. La porción de vejiga incluida en esta pieza debe de ser tratada igual que cualquier otra cistectomía parcial.
- El trayecto uracal incluido debe:
- Pintarse todo él con tinta china.

- Hacer secciones perpendiculares y paralelas desde la vejiga hasta la cicatriz umbilical.
- Seleccionar aquellos cortes que macroscópicamente sean distintos. En el caso de que no se vean variaciones, deben seleccionarse al menos tres secciones: una en relación a la vejiga, otra en la porción central del trayecto y la tercera en relación a la piel.
- Tejidos blandos que rodean el uraco.
- Límite quirúrgico de la cistectomía y los límites quirúrgicos de la piel abdominal.

4. LINFADENECTOMÍAS:

- Deben consignarse todos los ganglios enviados. En caso de ganglios patológicos debe incluirse al menos una sección de cada uno y referir el tamaño del mayor de ellos. Los ganglios macroscópicamente normales deben incluirse en su totalidad.

VÍA URINARIA ALTA

1. NEFROURETERECTOMÍAS

La descripción macroscópica debe incluir cada uno de los apartados aunque no se observen anomalías.

- Identificación de las piezas anatómicas presentes en la resección (riñón, suprarrenal, rodete vesical) y su lateralización. No se recomienda la decapsulación renal. Peso y diámetros del riñón y longitud del uréter..
- Aspecto externo del riñón y uréter antes de la apertura.
- Apertura longitudinal del uréter en fresco si es posible. Se puede excluir la zona tumoral y efectuar secciones *transversales* de dicha zona, una vez fijado.
- Apertura bivalva del riñón con estudio de las estructuras del seno renal y su relación con los tumores de vías altas (pelvis y cálices) si los hubiere.
- Se procederá a identificar el margen perirrenal y el margen circunferencial del uréter con tinta china.
- En la descripción macroscópica detallada de la pieza se indicará el número de tumores, su tamaño, su localización anatómica en la vía (tumor calicial, en pelvis renal, uréter superior, uréter medio o uréter inferior), el aspecto macroscópico del/los tumor/es (papilar, sólido), el aspecto de las estructuras anatómicas adyacentes al tumor (pared muscular, tejido adiposo, riñón) y la distancia al margen de resección distal y circunferencial.
- Características de los órganos acompañantes (suprarrenal).
- Selección de las secciones.
- Se incluirán muestras transversales de cada tumor incluyendo en las mismas todo el espesor de la pared de la vía urinaria hasta la tinta china. En caso de tumores <2 cm se procederá a la inclusión total. Si son mayores, una sección por cm de diámetro máximo del tumor.
- En caso de tumores con sospecha de invasión macroscópica del riñón, se tomarán muestras del parénquima renal peritumoral con inclusión de la grasa perirrenal.
- El límite quirúrgico distal (rodete vesical o segmento distal del uréter) y el límite circunferencial deben ser estudiados de manera sistemática.
- En caso de riñón macroscópicamente normal debe tomarse al menos una sección del parénquima.
- Se deben tomar muestras de la mucosa no tumoral a nivel de pelvis, uréter proximal, medio y distal si es posible.
- Buscar ganglios en la grasa del hilio renal y proceder con ellos de la misma manera que en las linfadenectomías referidas anteriormente.

2. URETERECTOMÍA

Descripción macroscópica

- Tipo de pieza recibida (total o parcial) con descripción del aspecto externo.
- Pintar con tinta china el margen circunferencial.
- Se recomienda una apertura longitudinal en fresco.

- Descripción de la tumoración que incluya número, tamaño, estado de los tejidos subyacentes y distancia a los márgenes.

Selección de secciones

- Tumor en relación al límite circunferencial. Si el tumor es inferior a 2 cm debe incluirse totalmente.
- Límites quirúrgicos laterales.
- Mucosa plana no tumoral.

III. ESTUDIO MICROSCÓPICO/DIAGNÓSTICO

El estudio microscópico es común para toda la vía urinaria con algún cambio específico según la topografía. Por este motivo hemos hecho dos grupos, uno para el tejido procedente de RTU (la ausencia de referencias topográficas merecen una atención diferenciada) y todas las piezas de resección en un segundo grupo.

1. RTU VESICAL

- Diagnóstico de la neoplasia (clasificación de la OMS), el grado histológico y nivel de invasión.
- Referir los tejidos presentes en la muestra haciendo hincapié en la presencia o no de capa muscular propia.
- En caso de denudación urotelial debe describirse de esta manera evitando expresiones como "ausencia de neoplasia" puesto que no es exactamente lo mismo.
- Valoración del subestadiaje siempre que sea posible. Esto puede hacerse bien utilizando la muscularis mucosae como referencia o bien con sistemas de micrometría. Otros autores recomiendan simplemente expresar si la invasión es focal o extensa.
- Referir el TNM, que en este caso será el clínico.
- No forzar la sobreinterpretación del grado o el estadiaje en muestras subóptimas.
- **Situaciones conflictivas** derivadas de la naturaleza de las muestras de RTU.
 - Confusión entre muscularis mucosae hipertrófica y haces de muscular propia. En este caso hay que valorar el contexto que acompaña los haces de muscularis mucosae y buscar la presencia de vasos acompañantes de mediano calibre que suelen acompañar la muscularis mucosae. El estudio inmunohistoquímico con smoothelina no ha resuelto el problema ya que puede ser positiva en casos de hipertrofia de la muscularis.
 - La presencia de tejido adiposo no debe interpretarse como invasión extravesical ya que se puede encontrar en todas las capas de la pared vesical.
 - En ocasiones y en tejidos muy artefactados puede ser necesario el uso de citoqueratinas con métodos inmunohistoquímicos para objetivar una posible invasión.
 - En casos de invasión de muscular propia no puede diferenciarse T2a del T2b.

DIAGNÓSTICO (según el centro, puede unificarse descripción microscópica con diagnóstico). Debe incluir:

- TIPO CELULAR DE NEOPLASIA SEGUN ÚLTIMA EDICIÓN OMS.
- GRADO DE DIFERENCIACIÓN SEGÚN LA OMS.
- CONSIGNAR REPRESENTACIÓN DE MUSCULAR PROPIA.
- NIVEL DE EXTENSIÓN SEGÚN ÚLTIMA EDICIÓN DEL TNM (hay que considerar el uso de la categoría TX cuando únicamente observamos tumor sin representación de muscular propia).
- SIEMPRE QUE SEA POSIBLE SE RECOMIENDA HACER UNA VALORACIÓN DEL NIVEL DE INVASIÓN DE LA SUBMUCOSA EN LOS CASOS T1 (MÍNIMOS FOCOS O EXTENSOS Y CERCANOS A LA MUSCULAR PROPIA).
- CONSIGNAR INVASIÓN VASCULAR O PERINEURAL.
- ESTADO DE LA MUCOSA PLANA (en los casos con biopsias de mucosa no tumoral)

2. PIEZAS DE RESECCIÓN (*uretrectomías, cistoprostatectomías/cistectomías radicales, parciales, cupulectomía, ureterectomías y nefroureterectomías*).

- Clasificación de la neoplasia siguiendo la OMS, el grado histológico y el nivel de invasión según el TNM.
- Estado de los márgenes de resección teniendo en cuenta todas las estructuras anatómicas así como el margen circunferencial.
- Factores pronósticos relevantes: número, tamaño de los tumores y tipo de crecimiento del tumor (sólido o papilar), invasión vascular (puede ser necesario el uso de marcadores vasculares CD31, CD34, ERG o marcador de vasos linfáticos D240) presencia de carcinoma in situ en la mucosa plana y tipo de crecimiento del componente invasor (nodular, trabecular o infiltrativo).
- Estado de los órganos incluidos en la resección (próstata y vesículas seminales, órganos ginecológicos, uraco, recto...).
- Estado de los ganglios.
- **Situaciones conflictivas:** hay que tener en cuenta que una mala interpretación en este tipo de piezas suele ser consecuencia de un muestreo deficiente, sin embargo hay algunos aspectos que merecen especial atención porque se prestan a interpretaciones confusas:
 - **Piezas de cistectomía radical:**
 1. El carcinoma in situ puede extenderse por la uretra hasta ductos parauretrales y continúa siendo un in situ. Si hay invasión del tejido subepitelial desde un ducto parauretral con carcinoma in situ estamos ante un pT1 y si la invasión alcanza la estroma, un pT2. La invasión de la próstata se considera un pT4 si la invasión del carcinoma urotelial es directa atravesando el cuello vesical o bien es desde el tejido pericístico. Por este motivo el informe debe reflejar el estado de la uretra propstática y del parénquima prostático, sea patológico o no.
 2. En aquellos casos en los que no se identifique tumor o bien la neoplasia en la pieza es menos invasiva que la observada en la RTU previa, se debe añadir un comentario que deje claro la situación del pT en la pieza y del T en la RTU. Algunos autores recomiendan hacer una valoración global del caso teniendo en cuenta el material de RTU y el de la pieza, en forma de comentario final.

DIAGNÓSTICO (según el centro, puede unificarse descripción microscópica con diagnóstico). Debe incluir:

- TIPO CELULAR DE NEOPLASIA SEGUN ÚLTIMA EDICIÓN OMS Y PATRÓN DE CRECIMIENTO (*sólido, papilar*).
- GRADO DE DIFERENCIACIÓN SEGÚN LA OMS.
- NIVEL DE EXTENSIÓN SEGÚN ÚLTIMA EDICIÓN DEL TNM.
- ESTADO DE LOS MÁRGENES DE RESECCIÓN:
 - Uretrectomías: Márgenes laterales y circunferencial.
 - Cistecomías radicales: Márgenes laterales (uréteres proximales, uretra prostática en el hombre, uretra en la mujer). Margen circunferencial.
 - Cistectomías parciales: Laterales y circunferencial.
 - Ureterectomías: Laterales y circunferencial.
 - Nefroureterectomías: uréter distal/rodete vesical y circunferencial (tejido periureteral y/o riñón o grasa perirrenal).
- ESTADO DE TODOS LOS ÓRGANOS INCLUIDOS EN LAS RESECCIONES (según el tipo de pieza, ver descripción macroscópica).
- CONSIGNAR INVASIÓN VASCULAR O PERINEURAL.
- ESTADO DE LA MUCOSA PLANA.
- ESTADO DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS AISLADOS EN LAS MUESTRAS DE LINFADENECTOMÍAS Y/O LOS HALLADOS EN LAS PIEZAS DE RESECCIÓN.

IV. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

En general los carcinomas derivados del urotelio no precisan de estudios inmunohistoquímicos para su diagnóstico, no obstante en ocasiones puede ser necesario confirmar el origen urotelial. En estos casos recomendamos el siguiente panel de marcadores, siempre en el contexto clínico y morfológico adecuado: CK20, citoqueratina de alto peso molecular (34betaE12, ck5/6), GATA3 y p63.

Para el diagnóstico diferencial entre atipia reactiva y carcinoma in situ la morfología es el "gold standard". No hay un panel inmunohistoquímico que sea determinante en este diagnóstico, aunque en ocasiones pueda ser de ayuda el uso de p53, ck20 y CD44.

En el caso de las proliferaciones fusocelulares se recomienda el uso del panel: ALK1, SMA, desmina, citoqueratina (AE1/AE3) y p63 con alguna citoqueratina de alto peso molecular o CK5/6.

Finalmente, si se sospecha un síndrome de Lynch, se recomienda la realización del estudio inmunohistoquímico frente a una pérdida de enzimas reparadoras de defectos en el ADN (MSH2-MSH6-MLH1-PMS2), así como del estudio molecular de inestabilidad de microsatélites (IMS) en los centros en que esto pueda hacerse.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramani P, Birch BR, Harland SJ, et al. Evaluation of endotelial markers in detecting blood and lymphatic cannel invasión in pT1 transicional carcinoma of bladder. *Histopathology*. 1991; 19 (6): 551-4.
2. Acs G, Dumoff KL, Solin LJ, Pasha T, Xu X, Zhang PJ. Extensive retraction artifact correlates with lymphatic cannel invasión and nodal metástasis and predicts por outcome in early stage breast carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007; 31(1):129-40.
3. Amin MB, Ro JY, el-Sharkawy T, et al. Micropapillary variant of transitional cell carcinoma of the urinary bladder: histologic pattern resembling ovarian papillary serous carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1994; 18 (12): 1224-32.
4. Lopez-Beltran A, Algaba F, Berney DM, Boccon-Gibod L, Camparo P, Griffiths D, Mikuz G, Montironi R, Varma M, Egevad L Handling and reporting of transurethral resection specimens of the bladder in Europe: a web-based survey by the European. Network of Uro pathology (ENUP).. *Histopathology* (2011): 1-7.
5. Lopez-Beltran A, Bassi PF, Pavone-Macaluso M, Montironi R Handling and pathology reporting of specimens with carcinoma of the urinary bladder, ureter, and renal pelvis. A joint proposal of the European Society of Uro pathology and the Uro pathology Working Group.. *Virchows Arch* (2004) 445:103–110.
6. Osunkoya A.O., Grignon DJ Practical issues and pitfalls in staging tumors of the genitourinary tract.. *Seminars in Diagnostic Pathology* (2012) 29, 154-166
7. Cheng L., Montironi R., Davidson1 D, Lopez-Beltran A Staging and reporting of urothelial carcinoma of the urinary bladder.. *Modern Pathology* (2009) 22, S70–S95.
8. Amin MB, Trpkov K, Lopez-Beltran A, Grignon D Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the bladder lesions: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference.; Members of the SUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. *Am J Surg Pathol*. 2014 Aug;38(8):e20-34
9. Pellucchi F, Freschi M, Ibrahim B, Rocchini L, Maccagnano C, Briganti A, Rigatti P, Montorsi F, Colombo R. Clinical reliability of the 2004 WHO histological classification system compared with the 1973 WHO system for Ta primary bladder tumors. *J Urol*. 2011 Dec;186(6):2194-9

10. Chen Z, Ding W, Xu K, Tan J, Sun C, Gou Y, Tong S, Xia G, Fang Z, Ding Q. The 1973 WHO Classification is more suitable than the 2004 WHO Classification for predicting prognosis in non-muscle-invasive bladder cancer. 2012;7(10):e47199.
11. Burger M, van der Aa MN, van Oers JM, Brinkmann A, van der Kwast TH, Steyerberg EC, Stoehr R, Kirkels WJ, Denzinger S, Wild PJ, Wieland WF, Hofstaedter F, Hartmann A, Zwarthoff EC Prediction of progression of non-muscle-invasive bladder cancer by WHO 1973 and 2004 grading and by FGFR3 mutation status: a prospective study.. Eur Urol. 2008 Oct;54(4):835-43.
12. Crockett DG, Wagner DG, Holmäng S, Johansson SL, Lynch HT Upper urinary tract carcinoma in Lynch syndrome cases.. J Urol. 2011 May;185(5):1627-30. TNM classification of malignant tumours. Editores LH Sobin, Ch. Wittekind. Editorial Spingrer 2010.
13. Algaba F, Alvarez-Argüelles H, Condom E. y cols. Protocolos diagnósticos y pronósticos en uropatología. Club de Uropatología 2001.

Protocolos del Cáncer de Próstata

CAPÍTULO 1:

I. MANEJO DE LAS MUESTRAS PROSTÁTICAS: BIOPSIA PROSTÁTICA EXTENSIVA, BIOPSIA POR RTU Y PROSTATECTOMIA RADICAL

M^a del Pilar Gallel

Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida

Todas las muestras que llegan al laboratorio de Anatomía Patológica deben ir acompañadas de petición de estudio donde deben constar todos los datos clínicos relevantes, incluso en las peticiones electrónicas para agilizar el manejo de la información.

Las recomendaciones de envío se separan en tres apartados según el tipo de muestra.

I.1. BIOPSIA MEDIANTE AGUJA (CORE BIOPSIA).

Aunque no es tarea del patólogo indicar el número de muestras, sino del profesional que realiza la biopsia, se recomiendan algunas directrices fruto de las reuniones de los paneles de expertos de Estados Unidos, Canadá y Europa.

La biopsia de inicio más adecuada ante la sospecha de cáncer de próstata (tacto rectal anormal o elevación del PSA) es la **biopsia extensiva** caracterizada por 10-12 cilindros bien identificados. Ha demostrado ser mejor predictor del score de Gleason final que la biopsia sextante, reduce la necesidad repetir la biopsia prostática negativa, aumenta el valor predictivo de negatividad y muestra mayor concordancia con la pieza de prostatectomía (Burling2013).

La incorporación de muestras de las áreas laterales de la próstata mejora la predicción de invasión extraprostática y la planificación del tratamiento.

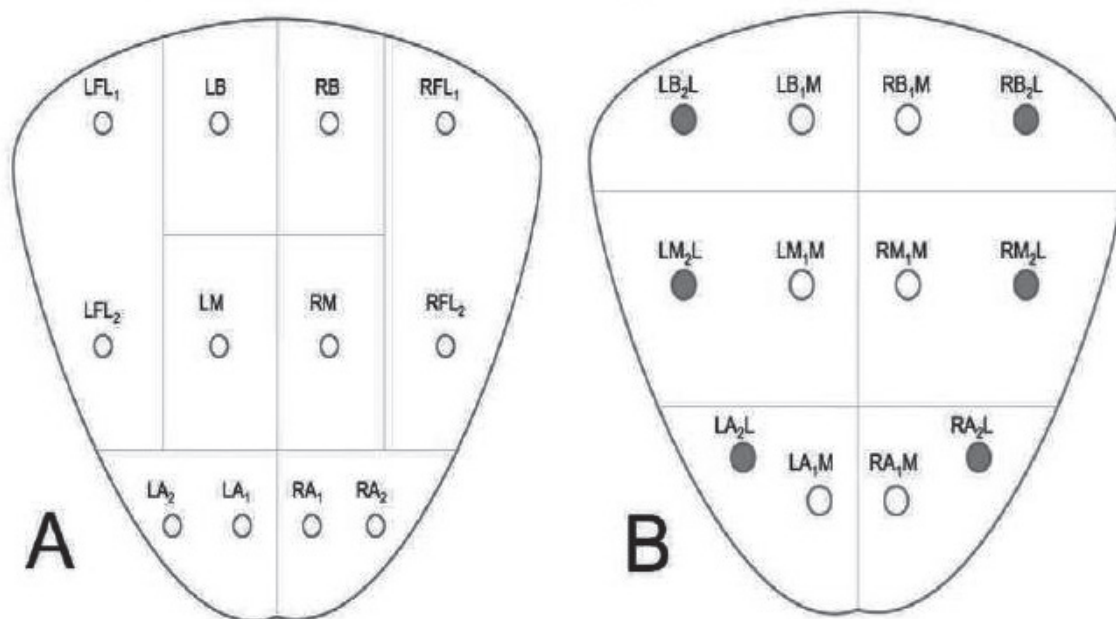
No hay consenso entre los expertos sobre las regiones prostáticas a biopsiar.

El panel de expertos europeo recomienda identificar las muestras de cada lóbulo y separar diferentes áreas de un mismo lado (apical, media y basal), pero sugieren que las muestras procedentes de una misma zona pueden juntarse en el mismo recipiente, sin poner más de dos cilindros en cada recipiente (6 recipientes).

En la literatura se proponen dos opciones adicionales:

Opción A: Total 8 recipientes con 1 ó 2 cilindros por bote, separando los cilindros del lóbulo derecho y del izquierdo, que deben incluir muestras de: la base (un cilindro), la zona media de la glándula (un cilindro), apex (2 cilindros) medio y lateral, y porción lateral distal (2 cilindros) uno de la zona media y otro de la base.

Opción B: Total 6 recipientes con 2 cilindros en cada bote separando los cilindros del lóbulo derecho e izquierdo. Deben incluir 2 muestras de la región media y lateral de la base, 2 cilindros (central y lateral) de la zona media de la glándula y 2 del ápex (media y lateral). Uno de los 2 cilindros (el lateral) debe teñirse con tinta china.



En ambos casos pueden enviarse biopsias adicionales correspondientes a:

- 1 cilindro de la región anterior del apex.
- biopsia de un nódulo o una imagen sospechosa por RNM (PRADS).

Otros tipos de biopsias mediante aguja:

- **Biopsia sextante simple:** 6 cilindros en 2 recipientes separando el lóbulo izquierdo y el derecho.

Podría ser suficiente para el diagnóstico de confirmación de los casos localmente avanzados o los casos que debutan con metástasis.

- **Biopsia por saturación** (18-21 cilindros).

Existe una evidencia limitada de que el incremento de cilindros (>12) mejore significativamente la detección de cáncer y el valor predictivo negativo (Taneja 2013).

Envío de la muestra

Los cilindros prostáticos deben enviarse fijados en formol tamponado al 10%. Ha de evitarse la fijación flotante. Se recomienda colocar los cilindros sobre una superficie (papel o esponja) y sumergirlos en el fijador.

Se recomienda que en la petición de estudio, que siempre debe acompañar a las muestras, consten todos los datos clínicos relevantes y la identificación topográfica exacta de la muestra (según los protocolos mencionados).

I.2. BIOPSIA POR RESECCIÓN TRANSURETRAL DE PRÓSTATA (RTU)

Envío de la muestra

El material ha de enviarse fijado en formol tamponado al 10% en un recipiente de volumen adecuado para que la proporción entre los fragmentos de tejido y el fijador sea 10/1.

Cualquier distinción que quiera hacer el urólogo, debe hacerlo separando el material en distintos frascos.

I.3. PIEZA DE PROSTATECTOMIA RADICAL

Envío de la pieza

La pieza de prostatectomía debe remitirse completa (con las vesículas seminales y el cuello vesical)

En ocasiones el urólogo cree oportuno separar el cuello vesical, en estos casos, este será considerado como límite quirúrgico. Otras veces, y según la técnica que haya usado el cirujano, el cuello no estará incluido en el espécimen, hecho que debe estar referido en la hoja de petición, (ya que esta es la única forma de que el patólogo pueda distinguir con certeza absoluta entre la zona fibromuscular anterior y los haces musculares del cuello vesical).

Debe enviarse fijada en una solución de formol tamponado al 10%. Ha de sumergirse inmediatamente tras la extirpación quirúrgica para evitar la autólisis.

El recipiente debe tener un volumen adecuado para que **la proporción entre la pieza y el formol sea 20/1**, -Ha estar fijando al menos 1h por mm de grosor (media 24h). Para acelerar la fijación se puede inyectar formalina al 10% con una jeringa de 20ml y aguja de 23G. Debe hacerse lentamente. Al hacerlo la pieza se deforma momentáneamente pero no altera el estudio histológico final. También puede acelerarse la fijación usando el microondas 1 o 2 minutos a 60°.

Cuando se necesite tejido en fresco para investigación y/o banco de tumores, debe remitirse lo antes posible al laboratorio de Anatomía Patológica (antes de 1h para preservar los tejidos y los ácidos nucleares), mejor rodeada de hielo,

El método para tomar muestras en fresco puede variar (no hubo consenso USCAP 2009), pero han de considerarse dos premisas:

- No debe comprometer los datos histopatológicos (score de Gleason, volumen tumoral, bordes de resección) para el manejo clínico del paciente.
- El material debe ser de calidad y representativo de la lesión.

Se proponen diferentes opciones:

- Cortar una muestra de la zona sospechosa con bisturí tras la sección antero-posterior de la próstata. Para evitar la deformación de la próstata previamente cortada puede pincharse sobre un corcho con la superficie de corte hacia abajo y sumergirla rápidamente en formol tamponado al 10%, en un recipiente adecuado para mantener la proporción 10-20/1.
- Biopsia por punch de las secciones de la próstata que interesen.

Otros métodos menos usados son biopsia mediante aguja desde el exterior (BAG) y aspirados o coágulos mediante PAAF.

El material en fresco, obtenido por cualquiera de los métodos se procesa poniendo OTC y se congela en isopentano inmediatamente.

CAPÍTULO 2

II. ABORDAJE DEL ESTUDIO MACROSCÓPICO: MANIPULACIÓN DE LAS PIEZAS. PROTOCOLO RECOMENDADO PARA LA SELECCIÓN DE LAS SECCIONES EN EL TALLADO. DATOS MÍNIMOS PARA LA DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA.

De nuevo separamos los tipos de muestra en tres apartados.

II.1. CILINDROS (BIOPSIA MEDIANTE AGUJA)

Descripción macroscópica y manejo

- Número de cilindros y su procedencia (según la identificación del solicitante).
- Longitud de los cilindros.
- Incluir los cilindros estirados y orientados entre dos esponjillas de nylon.

Ventajas: mejora el diagnóstico de cáncer y disminuye el de lesiones atípicas.

II.2. MATERIAL OBTENIDO POR RTU

Descripción macroscópica y selección del material

- Cuantificar el material. Puede pesarse o medirse. Recomendamos pesar el material después de colarlo para retirar el formol.
- Indicar si se realiza inclusión total o parcial.

No hay consenso sobre la cantidad de material a incluir. El examen cuidadoso de la muestra y su inclusión total pueden mejorar algo el valor predictivo del cáncer detectado por RTU.

Se recomienda que las muestras de 12gr o menos deben incluirse en su totalidad.

En muestras de más de 12gr es correcta la inclusión parcial con las siguientes directrices:

- Elegir los fragmentos de coloración amarilla, consistencia firme o que se distinguen del resto.
- En muestras de 12 a 30gr deben incluirse 12gr (5-6 cápsulas).
- En muestras de más de 30 gr hay que añadir una cápsula por cada 10gr de más.
- Si se encuentra carcinoma en menos del 5% del material, hacer inclusión total.
- En pacientes menores de 65 años incluir todo el material para identificar todas las lesiones T1a. Si en los primeros 8 casetes se ha detectado carcinoma T1b no es necesario incluir más tejido.

II.3. PIEZA DE PROSTATECTOMIA RADICAL

Descripción macroscópica

- Pesar la glándula sin las vesículas seminales ni los conductos deferentes.
- Medir la próstata en tres dimensiones: apical- basal (vertical), izquierda-derecha (transversal) y anterior-posterior (sagital). En todas las medidas se tomará la longitud máxima.
- Pintar el margen quirúrgico. La adhesión de la tinta mejora sumergiendo la próstata en ácido acético al 5%.
- Se recomienda pintarla con 2 colores como mínimo para diferenciar el lado izquierdo y el derecho. Pueden usarse hasta 4 colores para separar las regiones anterior y posterior.
Puede ponerse un solo color (nitrato de plata o tinta china) y hacer un corte en una localización específica (antero lateral o posterior izquierda) e incluirla detallando la topografía.
- Se recomienda apoyar la pieza sobre la superficie posterior (rectal).
- Para pasar al tallado o corte de la pieza ha de estar fijada completamente.

Protocolo de tallado

Comenzar por una sección gruesa del apex, realizando un corte perpendicular a la cara posterior y después la porción cónica debe laminarse de forma sagital (cone method).

La base debe separarse del resto de la próstata, con un corte paralelo al cuerpo y perpendicular a la cara posterior, más delgado que el corte del ápex (cone method) y posteriormente realizar el laminado sagital.

Después se realizan cortes paralelos de 3-4mm, de apex a base, perpendiculares a la uretra, con hojas de bisturí muy largas(22) para lograr un corte homogéneo.

Puede fotografiarse el conjunto, una vez seccionada.

En este momento puede añadirse a la descripción macroscópica todas aquellas alteraciones que destaquen, al corte. En la superficie de sección deben valorarse las áreas amarillas o más densas (localización y medidas).

Selección de la muestra

Se recomienda realizar la inclusión total de la glándula como recomiendan la mayoría de las guías europeas.

La elección de procesar la próstata en secciones completas o cortes estándar depende de cada laboratorio.

En el caso de la inclusión por segmentos (por división en 4 de cada sección panorámica) debe identificarse cada cápsula de forma individualizada.

La clave para identificar la procedencia de los cortes se hará de acuerdo al método de confección de las preparaciones.

Es recomendable seguir siempre el mismo orden, siendo la forma mas natural el recuento de la secciones desde el cuello vesical.

- Los cortes sagitales del ápex y de la base se incluyen de esa forma para poder ver más extensión de borde quirúrgico.
- Debe incluirse la porción basal de cada vesícula y la transición de la vesícula a la próstata. No es recomendable incluir toda la vesícula seminal. No debe incluirse el margen de resección de los vasos deferentes.

Si se usa una inclusión parcial debe asociarse una descripción detallada del método usado y de las muestras, y añadirlo al informe de diagnóstico.

Uno de los posibles métodos de inclusión parcial, debería incluir, sin falta, secciones de:

- cuello vesical (si está incluido en la pieza según lo descrito en el capítulo de manipulación de la pieza) cortado de forma sagital.
- Ápex prostático cortado de forma sagital.
- Porciones latero posteriores de ambos lados (con especial interés en los plexos vasculo-nerviosos superiores e inferiores).
- Zonas prostáticas sospechosas (tanto macroscópicas como detectadas por la clínica) incluyendo en entorno.
- Zonas de las vesículas seminales, porción basal y la transición a la próstata.
- Zona fibromuscular anterior, especialmente en aquellos casos con inicio o extensión de la neoplasia a la zona de transición.

Resumen de los procedimientos obligatorios en el manejo de la prostatectomía radical:

- Quitar las vesículas seminales antes de pesar la próstata
- Hacer constar el peso de la próstata
- Informar los tres diámetros de la próstata.
- Teñir la próstata al menos con 2 colores
- Cortar la tras la fijación completa.
- Cortar el apex de forma cónica y posterior laminado sagital
- Cortar la base de forma cónica y posterior laminado sagital
- Documentar el protocolo de inclusión parcial
- Incluir la sección basal de la vesícula seminal

Tomar fotografías de la pieza de prostatectomía una vez cortada para ayudarnos en las explicaciones de los comités de tumores y para estudios de correlación con las imágenes de RNM.

Informar a los clínicos la forma óptima de remitir el material aprovechando los comités de tumores. Repetir la información tantas veces como sea necesario y en todos los foros posibles.

II.4. RECOMENDACIONES ADICIONALES

- Proceder a la inclusión de los cilindros prostáticos con unas pinzas delgadas y manejar la biopsia con suavidad.
- Incluir los cilindros con rapidez para que no se deshidraten.
- Se recomienda pesar y medir los fragmentos procedentes de la RTU de próstata.
- Si se recibe cualquier biopsia en un recipiente inadecuado (muy pequeño para la correcta fijación del tejido) cambiarlo a uno adecuado inmediatamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Algaba F, Alvarez-Argüelles H, Comdon E, Chivite A, Fernandez PL, Garcia F, Gonzalez-Peramato, Guarch R, Lopez-Beltran A, Matilla A, Perez Guillermo M, Picazo I, Serrano A, Soares Oliveira, I de Torres, I Trias,

and Val –Bernal F. Recomendaciones para el correcto envío de las muestras. En Protocolos diagnósticos y pronósticos en uropatología.2001;pag 45.

2. Berney DM, Wheeler TM, Grignon DJ, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Montironi R, Delahunt B, Egevad L, Srigley JR and ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 4: seminal vesicles and lymph nodes. *Mod Pathol* 2011; 24:39-47.
3. Burlin MA, Carter HB, Schellhammer P, Cookson MS, Gomella LG, Troyer D, Wheeler TM, Schosberg, Penson DF and Taneja SS. Optimization of Initial Prostate Biopsy in Clinical Practice: Sampling, Labeling, and Specimen Processing. *J.Urol*- 2013 ; 186: 2039-2046-
4. Egevad L. Handling of radical prostatectomy specimens. *Histopathol* 2012; 60: 118-124.
5. Epstein JI and Netto GJ. Chapter 1 in Biopsy Interpretation of the Prostate (Biopsy Interpretation series) Book, 2007. 4th ed.
6. Montironi R, Cheng L, Scarpelli M and Lopez-Beltran A. "Pathological" Reflection on European Urology: Extended, Saturation and Systematic Prostate Biopsy. *Eur Urol* 2008; 53:1111-1122.
7. Samaratunga H, Montironi R, True L, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Wheeler TM, Srigley JR, Delahunt B, Egevad and The ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol* 2011;24:6-15.
8. Trpkov K, Thomson J, Kulaga A and Yilmaz A. How much tissue sampling is required when unsuspected minimal prostate carcinoma is identified on transurethral resection? *Arch Pathol Lab Med*, 2008; 132: 1313-6.

CAPITULO 3

III. ESTUDIO MICROSCÓPICO DE LA BIOPSIA PROSTÁTICA EXTENSIVA Y DE LAS MUESTRAS DE RTU: QUÉ EVALUAR Y COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL Y EL SCORE GLEASON

M^a Isabel Hierro

Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga

En las últimas décadas se han producido importantes cambios tanto en la evaluación diagnóstica de hombres con sospecha de cáncer de próstata (CaP) como en su manejo tras el diagnóstico. Ello ha modificado el papel del patólogo pasando de ser un mero "diagnosticador" a ser un "determinador de terapia" y "predicador de evolución" siendo el examen histopatológico de la biopsia de próstata la base del diagnóstico, con el score Gleason (SG) y la extensión del CaP como importantes determinantes, tanto de la estratificación del riesgo como del tratamiento (Horwich 2013).

Inicialmente el procedimiento para la detección del CaP era la biopsia dirigida a áreas sospechosas, y pasó a ser sistemática por sextantes (lateralizada), obteniéndose seis cilindros. Actualmente la mayoría de las guías recomiendan la biopsia extensiva lateralizada, con 10-12 biopsias guiadas por ultrasonidos, transrectal o perineal, y además uno o dos cilindros más si un nódulo sospechoso se detecta por ecografía, etc. Con esta ampliación, el propósito de la biopsia con aguja se ha desplazado de focalizar áreas específicas de interés en

la exploración rectal hasta el mapeo sistemático de la glándula, para no sólo detectar afectación por cáncer, sino también intentar anticipar su grado y su extensión (Eichler 2006, Scattoni 2007, Heidenreich 2011).

En la práctica esta información es utilizada para determinar:

1. la indicación o falta de indicación de cualquier forma de terapia o seguimiento,
2. decidir las opciones terapéuticas que ofrecer al paciente,
3. extensión de la resección (por ej. preservación nerviosa o no) en los pacientes que optan por la cirugía
4. la naturaleza y dosificación de la terapia de radiación.

Siendo la vigilancia activa (VA) una alternativa para hombres con enfermedad de bajo riesgo, tras el hallazgo en el estudio European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) de que alrededor del 50% de CaP PSA-detectados era poco probable que causasen daño durante la vida del paciente. Los criterios de elegibilidad para la VA varían, pero suelen incluir parámetros de volumen de cáncer además del Gleason (Abdollah 2001, Andriole 2009, Schroder 2009, Bangma 2013, Amin 2014)

III.1. BIOPSIA DE PROSTATA EXTENSIVA: QUÉ EVALUAR

La información histopatológica que ofrezca la biopsia va a ser usada por el urólogo para establecer una actitud terapéutica de mayor o menor agresividad según la probabilidad de invasión extracapsular o de progresión que se derive de los datos que aporta. Recogemos en la tabla 1 todos los datos que se recomienda que sean informados en la biopsia de próstata con CaP (Fine 2012, Van der Kwast 2013).

Tabla 1. Elementos esenciales de información en biopsia con aguja con Ca. Próstata

- **Gradación de Gleason:** patrones presentes y puntuación total o score Gleason
- **Número de cilindros positivos/ nº total cilindros**
- **Cuantificación del Tumor o extensión** (porcentaje de afectación y / o medida lineal en mm)
- **Datos para estadificación** (extensión extraprostática / infiltración de vesículas seminales) **e infiltración perineural o invasión linfovascular**, si presentes
- **Cambios relacionados con el tratamiento**, si presentes.
- **Lesiones precursoras o de riesgo:** PIN, Ca. Intraductal, ASAP o atipia glandular
- **Otros hallazgos** del parénquima benigno

III.2. BIOPSIA DE PROSTATA EXTENSIVA: COMO CUANTIFICAR EL SCORE GLEASON (GS)

Independientemente de las recientes modificaciones, la evidencia acumulada de más de 40 años de aplicación ha demostrado que el SG de la biopsia es el predictor más importante de los resultados patológicos en la pieza de prostatectomía radical (PR), así como uno de los predictores clave de los resultados clínicos después de PR o radiación (Makarov 2007; Billis 2008).

Como resultado del creciente volumen de muestras y de la importancia asignada al Gleason en distintos nomogramas y modelos predictivos (MaKarov 2007), los patólogos hemos adquirido más experiencia en la aplicación del Sistema de clasificación de Gleason. Un ejemplo bien documentado es el grupo de lesiones anteriormente diagnosticadas como CaP GS 2 (1 + 1), que es ahora bien sabido que muchos de estos casos, con tinciones IHQs con marcadores de células basales, podrían ser clasificados como adenosis (HAA), una entidad benigna (Epstein 2000). Adicionalmente zonas difíciles o menos reconocidas, como qué patrón asignar a glándulas cribriformes de pequeño a mediano tamaño, o a glándulas mal formadas y a distintas variantes de adenocarcinoma, también se han evidenciado en distintos estudios, existiendo, aún, gran variabilidad interobservador (Ruijter 2000, Allsbrook 2001, Berney 2014, Egevad 2013).

La **fiabilidad de la gradación** puede estar influenciada por:

1. *La experiencia del patólogo.* La concordancia interobservador es más alta cuando las muestras son valoradas por uropatólogos (70% en el agrupamiento por grados). En el caso de patólogos generales disminuye y en algunos estudios parece que existe una tendencia a asignar un SG menor al real.

Curiosamente en un estudio más reciente de concordancia en la Red Europea de Uropatólogos sobre clasificación de GS 6-8, basada en web-microscopía, se ha sugerido que los patólogos en general están empezando a “sobre-gradar” a los expertos. (Tolonen 2011)

2. *Tamaño de la muestra analizada.* El nº de cilindros, su tamaño y/o su fragmentación y porcentaje de afectación, van a dificultar la determinación del SG.
3. *Tratamientos previos* a la biopsia. La terapia hormonal produce cambios en las glándulas del CaP que, si se desconocen, pueden determinar un aumento en la gradación.
4. *Ausencia de criterios claros uniformes* en la aplicación práctica de los patrones de Gleason, recomendados en el consenso ISUP 2005, especialmente respecto a glándulas pequeñas mal formadas y glándulas cribiformes.

Recomendaciones para el estudio microscópico de las biopsias de próstata

Al iniciar el estudio microscópico de las biopsias, verificaremos que el número de cilindros y sus longitudes en las secciones de H-E coinciden, más o menos, con la descripción macroscópica. Así si, por ejemplo, hay una diferencia importante en el número de cilindros o en sus longitudes, se pueden cortar secciones más profundas con el fin de recuperar tejido prostático no seccionado para el examen microscópico.

La mayoría de los clínicos, al igual que varios nomogramas, consideran la biopsia con el SG más alto para decidir el tratamiento y/o obtener información pronóstica (Fine 2012). Idealmente, y siempre que sea posible y/o se reciban separadas y/o identificadas (en distintos contenedores, con tintas de colores, etc.), cada cilindro y/o zona de la biopsia debería informarse por separado, recogiendo en el informe específicamente su ubicación y si el sitio de la biopsia fue dirigido por una técnica de imagen (Moore 2013). Si se reciben todos juntos algunos recomiendan que además de informar el Gleason global, tener en cuenta los componentes del grado y su extensión en todos los cilindros de biopsia (Tolonen 2011]), ya que algunas publicaciones han demostrado que el porcentaje de un patrón de alto grado es más informativo que el SG global (Vis 2007, Kunju 2009, Reese 2012). Tabla 2.

Asignación de Patrones: como norma general, glándulas individuales bien formadas corresponden a patrón 3, glándulas mal formadas o fusionadas y glándulas cribiformes de cualquier tamaño corresponden a patrón 4 (salvo casos muy excepcionales de glándulas cribiformes de tamaño similar a las benignas y contorno liso que serían patrón 3) y células individuales, sabanas solidas y/o comedonecrosis a patrón 5 (Epstein 2010), pero las características de los patrones se detallarán en el capítulo 5.

Construcción del score Gleason según la Clasificación modificada en el Consenso de la Sociedad Internacional de Patología Urológica (ISUP) 2005

- La nueva clasificación de los patrones debe aplicarse a todos los adenocarcinomas convencionales (acinar), con independencia del tamaño del carcinoma (Tabla 2)
- El SG en la biopsia estará compuesto del patrón dominante y el peor patrón presente.
- En las muestras de biopsia con aguja donde solo hay un componente secundario menor (<5% de tumor): si es de grado superior, debe ser incorporado al SG pero si es de grado inferior, no (ej: un caso con más del 95% de Gleason 3 y menos del 5% de Gleason 4 se debe reportar como Gleason 7 (3 + 4); en la 2ª situación, cuando hay más de un 95% Gleason 4 y menos del 5% de Gleason 3, la puntuación o SG será 8 (4 + 4) .
- En las biopsias donde están presentes más de dos patrones, y el patrón de peor grado no es ni el predominante ni el secundario, debe seleccionarse para el SG el patrón predominante y el superior (ejemplo: el 75% de patrón 3, 22% de patrón 4 y <5% de patrón 5, se califica como Gleason 8 (3 + 5).

Este enfoque ha sido validado en grandes series clínicas (Patel 2007). La inclusión de cualquier cantidad del peor grado en el SG de la biopsia tiene como objetivo evitar la infra-gradación. Sin bien, para recoger la presencia de un componente grado 4 o grado 5 estos deben ser demostrados inequívocamente. La sobre-gradación como consecuencia del corte tangencial de glándulas de grado 3 de Gleason se debe descartar en casos dudosos examinando el foco en secciones a múltiples niveles.

Tras la modificación del Gleason de la ISUP 2005, *teóricamente no se deben dar en biopsias puntuaciones de SG 2 a 4*, ya que el criterio de circunscripción que conllevan los patrones 1 y 2 no puede ser correctamente evaluado en el limitado grosor del cilindro. Además muchos de los patrones 1 originalmente descritos, probablemente hoy, asistidos por técnicas IHQ, corresponderían a focos de adenosis. (Epstein 2000). Así pues, si bien todavía se permite en la biopsia excepcionalmente una puntuación de Gleason 5 (3 + 2), en general, *el patrón más bajo de crecimiento que puede ser evaluado con una biopsia es el patrón 3, lo que implica que un SG de 6 será el más bajo posible.*

El impacto más profundo de estos cambios ha sido que ahora el SG 7 es frecuentemente asignado y que se ha evidenciado diferente evolución clínica entre biopsias con SG 7 (3+ 4) vs 7 (4 + 3). Distintos estudios han observado el valor pronóstico de agrupar los SG en ≤ 6 , 7, 8 y 9-10; y además el subestratificar el GS 7, basado en el patrón primario (es decir, SG 3 + 4 vs SG 4 + 3), ya que cada grupo se comporta peor que el grupo anterior. Tumores con SG 9-10 se asocian con un pronóstico mucho peor que los tumores con GS 8, de manera que un SG 8-10 no debería ser considerado como un grupo homogéneo. (Billis 2008, Stark 2009, Zareba 2009).

Tabla 2. Recomendaciones para Gradación del Gleason en biopsias cilíndricas con Ca Próstata

Situación	Recomendación
Sólo un patrón presente (por ej., patrón 3)	Doblar el patrón (asignar SG: 3 + 3 = 6)
Abundante patrón alto (por ejemplo, patrón 4) con cáncer de patrón bajo <5%	Ignorar el bajo grado (asignar SG: 4 + 4 = 8)
Abundante patrón 3 con cualquier % de patrón 4 ó 5	Incluir el grado más alto (asignar SG: 3 + 4 = 7 ó 3 + 5 = 8)
Focos pequeños en su mayoría patrón 4 y pocas glándulas de patrón 3 > 5%	Incluir el patrón bajo (asignar SG 4 + 3 = 7)
Tres patrones presentes (por ej. 3, 4 y 5)	Asignar el más común y el más alto (asignar por ej. SG: 3+5=8 ó 4+5=9)
Múltiples cilindros con diferentes grados enviados por separado y / o con la ubicación designada	Asignar SG separados para cada cilindro
Múltiples cilindros con diferentes grados enviados en un envase y/o los cilindros están fragmentados	Asignar SG general o global para la muestra**

Modificado de Fine SW, Amin MB, Berney DM, et al. A Contemporary Update on Pathology Reporting for Prostate Cancer: Bopsy and Radical Prostatectomy Specimens. Eur Urol 2012.62: 20-39.

** Cuando se reciben múltiples cilindros juntos, sin designación de sus localizaciones, no hay una forma uniforme de clasificación del GS. Algunos protocolos recomiendan que el SG sea global asignados para cada muestra (contenedor), aunque alternativamente una puntuación de SG se puede dar para cada cilindro positivo de un recipiente. ("Protocol for the Examination of Specimens From Patients with Carcinoma of the Prostate Gland" del CAP, based on AJCC/UICC TNM 7ª ed.). Respecto a este hecho, cuando se reciben múltiple cilindros en un contenedor, incluso con la designación del sitio, es frecuente la fragmentación de los mismos, una situación problemática, ya que la relación de cada cilindro o fragmento con otro no estará clara. A fin de no dar una evaluación aparentemente precisa en un inherentemente impreciso escenario, la lógica dicta que el patólogo debería asignar un SG general en estos casos (Epstein 2005, Fine 2012).

Todo ello, unido a la coherencia que debe conllevar lo expresado con lo que se quiere transmitir (tanto al médico como al paciente), ha llevado a los expertos a *proponer los siguientes grupos pronósticos en función de los grados de Gleason, de forma que reflejen con mayor precisión el pronóstico del paciente: Gleason ≤ 6 (grupo de grado pronóstico I); Gleason 3 + 4 = 7 (grupo de grado pronóstico II); Gleason 4 + 3 = 7 (grupo de grado pronóstico III); Gleason 4 + 4 = 8 (grupo pronóstico grado IV), y Gleason 9-10 (grupo pronóstico grado V), (Berman and Epstein 2014) que serán próximamente incorporados a la nueva publicación de la OMS.*

Finalmente, la información esencial de cada muestra se podría transmitir con una simple línea de diagnóstico, como "Adenocarcinoma, Gleason 3 + 4 = 7, en 1 de 6 cilindros, afectando o implicando el 20% del cilindro/tejido, con una medición de 3 mm de largo.

Gradación de Gleason en situaciones especiales

* Gradación de Gleason de distintos tipos y variantes de cáncer de próstata

El SG de distintas tipos variantes de CaP ha sido modificado desde la clasificación original, su descripción se discutirán en detalle en el cap 5.

*Gradación de Gleason en biopsias post-tratamiento

Gradación de Gleason tras Radioterapia (RT) externa y braquiterapia

Los cambios inducidos por RT en el CaP se pueden indicar como mínimos, moderados o severos (Evans 2011), siendo aplicable la gradación Gleason solo en el caso de cambios mínimos (Tabla 3 .

Nos podremos encontrar en distintas situaciones:

1. Solo se ve cáncer irradiado: "adenocarcinoma con intenso efecto del tratamiento RT" y no se grada.
2. Cuando el tipo habitual de CaP es el único presente después de la terapia, indistinguible del CaP de un paciente que no ha recibido RT, si se grada.
3. En los casos en los que se ven tanto cáncer gradable como cáncer con efecto de RT, un enfoque razonable es asignar un GS y añadir una nota indicando: "El Gleason asignado refleja la porción gradable del carcinoma (%); el cáncer restante muestra intenso efecto del tratamiento RT.

Tabla 3. Gradación de los cambios inducidos por RT en el carcinoma de próstata

Gravedad de los efectos de la radiación	Hallazgos	Información score Gleason
Leve-mínima	Arquitectura intacta, mínimos o nulos cambios cito-nucleares	Aplicable
Moderada	Glándulas mal formadas, con citoplasmas hinchados y anomalías nucleares.	No aplicable
Severa	Células individuales dispersas con vacuolización y anomalías nucleares graves	No aplicable

Es importante determinar si el cáncer presente es gradable: para los pacientes que tienen sólo cáncer con intenso efecto del tratamiento, no gradable, las tasas de fracaso bioquímico y recidiva, son similares a las tasas de los pacientes con biopsias benignas, a diferencia de los pacientes con cáncer gradable post-RT (Fine 2012).

Gradación de Gleason tras Terapia de privación de andrógenos

Existen varias modalidades de terapia con grado variable de privación de andrógenos. Ha sido demostrado que la administración prolongada de inhibidores de la 5-alfa reductasa no influye en la arquitectura glandular del cáncer prostático, permitiendo la realización del SG (Lucia 2007). Por el contrario el tratamiento con *orquiectomía bilateral*, *agonistas LHRH*, *flutamida*, *abiraterona* o *MDV3100* producen el colapso de la arquitectura glandular del CaP y, por tanto, la clasificación de Gleason ya no es aplicable. Si en el CaP resistente a la castración, no se observa ningún efecto del tratamiento, esto se debe indicar, y una puntuación o SG podrá ser asignado (Evans 2011).

Gradación de Gleason tras modalidades de terapias preservadoras de próstata

En pacientes seleccionados, la terapia focal usando ultrasonidos de alta intensidad, crioablación o termoterapia de ablación de una parte de la glándula puede ser ofrecida como modalidad de tratamiento

preservador de próstata. Estos tratamientos producen necrosis coagulativa, fibrosis y depósitos de hemoderina, pero la arquitectura glandular de la próstata residual permanece en gran parte no afectada, siendo la clasificación de *Gleason aplicable*. La presencia y extensión de la fibrosis y necrosis debería ser informada en cada biopsia para dar a conocer al clínico los efectos de la terapia en el lugar de la biopsia. Las inmunotinciones para células basales y AMACR en el tejido vital residual no se comprometen por estas modalidades de terapia (Evans 2011).

III.3. LA BIOPSIA PROSTÁTICA EXTENSIVA: COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL

Los criterios de elegibilidad actuales para la vigilancia activa (VA) no sólo incluyen el SG, sino también estimaciones del volumen del cáncer en base al número de cilindros afectados y en mediciones de la extensión del CaP en un cilindro. Por esta razón, tanto en biopsias diagnósticas como en las biopsias de seguimiento, **el número o fracción de cilindros positivos debe ser recogido explícitamente, así como el porcentaje de cilindro afectado por el tumor**. Alternativamente, la extensión del cáncer por cilindro puede ser proporcionado en milímetros. No hay consenso todavía sobre qué medida es mejor, porcentaje o milímetros. Idealmente se podrían proporcionar ambas medidas (en porcentaje y en milímetros), especialmente en los pacientes que potencialmente puedan beneficiarse de la VA, (donde son pocos los cilindros positivos), y además porque una gran variedad de nomogramas clínicos y protocolos utilizan diferentes medidas. (Epstein 2011).

En cuanto a **cómo hacer la cuantificación**, aunque puede realizarse una medición exacta con ocular milimetrado, midiendo la longitud del cáncer respecto a la longitud total del cilindro, la mayoría de patólogos calculan el porcentaje de afectación del cilindro por CaP "a ojo", ya que la medición real de la longitud de carcinoma es una práctica laboriosa que consume bastante tiempo (en mi caso solo uso ocular milimetrado si de ello depende que el paciente cumpla o no cumpla los criterios de VA que usan mis urologos: máximo 2 cilindros con afectación max del 50%, en ausencia de patrones 4 y 5; en el resto para calcular el % hago una evaluación semicuantitativa de campos oculares que ocupa el tumor / campos oculares que ocupa el cilindro x 100, usando el aumento que mejor se adapte al tamaño del tumor).

Otra cuestión es **cómo medir cuando el cáncer se distribuye como focos de CaP discontinuos**. En un cilindro dado, los focos de cáncer pueden estar presentes de forma continua o discontinua a lo largo de la longitud de la muestra. En el primer caso, la longitud en mm, porcentaje de afectación, o ambos son evaluados fácilmente. Pero cuando varios focos de carcinoma están separados por estroma y glándulas prostáticas benignas, algunos patólogos "colapsan" los focos de tumor y suman sus dimensiones sin considerar el tejido intermedio (Brimo 2008) mientras que otros miden la distancia más alejada entre los focos más externos e informan toda la longitud y/o porcentaje de afectación como si fuera un foco ininterrumpido (por ejemplo, tres pequeños focos de carcinoma discontinuos que implicarían el 80% del cilindro) (Karram 2011).

Un tercer grupo, lo considera como un solo tumor continuo si la distancia entre los focos es < de 3 o 5 mm, y si entre los focos hay una distancia > 3 o 5 mm, sustraen el tejido benigno y hacen el sumatorio de los focos para dar el % de afectación (Berney 2014)

El método usado puede dar lugar a cuantificaciones del tumor muy diferentes, lo que puede afectar las predicciones de los nomograma o la elegibilidad para VA. Dos estudios de este tema específico comunican diferentes hallazgos. El primer estudio mostró que en cilindros con focos discontinuos de cáncer separados por 5 mm o < de tejido benigno, los dos métodos utilizados obtenían igual significado pronóstico. En contraste, un estudio posterior ha sugerido que la cuantificación como un foco ininterrumpido en los cilindros con focos de CaP discontinuos correlaciona mejor con los resultados patológicos de la pieza de PR. (Brimo 2008, Karram 2011, Amin 2014). Dada la evidencia limitada, no es posible sacar una conclusión definitiva en este momento.

Actualmente, ambas alternativas son aceptadas, siempre que se especifique y estandarice el método de medición dentro de un laboratorio y se consensue con los miembros del equipo multidisciplinar de uro-oncología. Esto

sorprende dada la importancia de este hecho, especialmente en aquellas circunstancias donde la forma de medir va a ser un factor discriminador de opción de VA. Obviamente, para la determinación del porcentaje de patrón de alto grado, sólo la cantidad de cáncer (sin intervenir tejido glandular benigno) debería tenerse en cuenta. (Fine 2012, Bismar 2003).

III.4. ESTUDIO MICROSCÓPICO E INFORME DE LAS MUESTRAS DE RTU: QUÉ EVALUAR Y COMO CUANTIFICAR LA AFECTACIÓN TUMORAL Y EL SCORE GLEASON

Las muestras de RTU encuentra cánceres incidentales en 4-16% de los pacientes intervenidos por hiperplasia nodular (HBP), aunque la prevalencia de este hallazgo ha disminuido en los últimos años, debido al screening con PSA y diagnóstico con biopsia, antes de la RTU, así como al aumento de las terapias médicas y ablativas para la HBP (Capitanio 2011).

Lo que hemos descrito sobre **qué datos evaluar e informar en CaP y cálculo del score Gleason** en la biopsia prostática, lo aplicaremos a las muestras de RTU. **Solo trataremos aquí la cuantificación del Tumor.**

Determinar la proporción o porcentaje de tejido prostático afectado por CaP en muestras de RTU es importante. Cuando se descubre el CaP incidentalmente (es decir, descubierto en las muestras enviados por enfermedad clínicamente benigna, en general HPB), *el porcentaje de afectación se utiliza para el subestadiaje T1, con $\leq 5\%$ de afectación siendo T1a y $> 5\%$ siendo T1b.*

En la práctica actual no hay consenso en cuanto al muestreo requerido ni a como calcular dicho porcentaje. Algunos patólogos incluyen todo el tejido y otros utilizan protocolos de muestreo subtotal en el procesamiento inicial. Adicionalmente, entre estos últimos, más o todo el tejido debería ser reincluido y examinado en los hombres más jóvenes con $< 5\%$ de cáncer en el muestreo subtotal inicial (Epstein 2007, Tripod 2008).

La interpretación de este % por los patólogos varía. Muchos evalúan el porcentaje de chips implicados mientras que otros informan el porcentaje de área de la superficie en cuestión. Esto último es más difícil de evaluar, especialmente en las grandes resecciones, y el porcentaje de chips involucrados proporciona información valiosa (Berney et al, en prensa).

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdollah F, Sun M, Thuret R, et al (2011). A competing-risks analysis of survival after alternative treatment modalities for prostate cancer patients: 1988–2006. *Eur Urol*;59:88–95.
2. Allsbrook WC Jr, Mangold KA, Johnson MH, et al. (2001). Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: general pathologists.. *Hum Pathol*, 32:81-88.
3. Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, Mikuz G et al. (2005). Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. *Scand J Urol Nephrol* ; 216:20–33.
4. Amin MB1, Lin DW, Gore JL, et al. (2014) Critical role of the pathologist in determining eligibility for active surveillance as a management option in patients with prostate cancer: consensus statement with recommendations supported by the CAP, ISUP, Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology, the New Zealand Society of Pathologists, and the Prostate Cancer Foundation. *Arch Pathol Lab Med*. Oct;138(10):1387-405.
5. Berman DM and Epstein JI.. (2014). When is prostate cancer really cancer? . *Urol Clin North Am*. 41(2):339-46.

6. Berney DM, Algaba F, Camparo P, et al (2014). The reasons behind variation in Gleason grading of prostatic biopsies: areas of agreement and misconception among 266 European pathologists. *Histopathology*. Feb;64(3):405-11.
7. Berney D. M., Algaba F., Camparo P, et al (2014): Variation in reporting of cancer extent and benign histology in prostate biopsies among European pathologists. *Virchow Archives* 464: 583-587.
8. Billis A, Guimaraes MS, Freitas LL, et al (2008). The impact of the 2005 International Society of Urological Pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol* 2008;180:548–52.
9. Bismar TA, Lewis JS, Robin. Vollmer RT and. Humphrey PA. (2003). Multiple Measures of Carcinoma Extent Versus Perineural Invasion in Prostate Needle Biopsy Tissue in Prediction of Pathologic Stage in a Screening Population. *Am J Surg Path* 27(4): 432–440.
10. Brimo F, Vollmer RT, Corcos J, et al (2008). Prognostic value of various morphometric measurements of tumour extent in prostate needle core. *Histopathology*;53:177–83.
11. Capitanio U. (2011). Contemporary management of patients with T1a and T1b prostate cancer. *Curr Opin Urol* 21:252–6.
12. Epstein JI. (2000). Gleason score 2–4 adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy: a diagnosis that should not be made. *Am J Surg Pathol*;24:477–8.
13. Epstein JI (2011) Prognostic significance of tumor volume in radical prostatectomy and needle biopsy specimens. *J Urol*; 186(3):790–7.
14. Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, Egevad LL (2005). ISUP Grading Committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*.;29(9):1228-1242.
15. Epstein JI. (2010) An update of the Gleason grading system. *J Urol*. Feb;183(2):433-40
16. Epstein JI, Srigley J, Grignon D, Humphrey P. (2007). Recommendations for the reporting of prostatic carcinoma. *HumPathol*;38:1305–9.
17. Egevad L1, Ahmad AS, Algaba F, et al (2013). Standardization of Gleason grading among 337 European pathologists. *Histopathology*. Jan;62(2):247-56
18. Evans AJ, Ryan P, Van derKwast T (2011) Treatment effects in the prostate including those associated with traditional and emerging therapies. *Adv Anat Pathol* 18(4):281–93.
19. Eichler K, Hempel S, Wilby J, et al (2006). Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: A systematic review. *J Urol*.;175(5):1605-12.
20. Fine SW, Amin MB, Berney DM. et al. (2012). A Contemporary Update on Pathology Reporting for Prostate Cancer: Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. *Eur Urol*.62: 20-39.
21. Heidenreich A, Bellmunt J, BollaM, Joniau S, MasonM,Matveev V et al (2011). EAU guidelines on

- prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *Eur Urol*; 59(1):61–71.
22. Horwich A, Parker C, de Reijke T, Kataja V, (2013), on behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†*Annals of Oncology* 24 (Supplement 6): 106–114,
 23. Karam S, Trock BJ, Netto GJ, Epstein JI. (2011). Should intervening benign tissue be included in the measurement of discontinuous foci of cancer on prostate needle biopsy? correlation with radical prostatectomy findings. *Am J Surg Pathol*;35:1351–5.
 24. Kunju LP, Daignault S, Wei JT, Shah RB. (2009). Multiple prostate cancer cores with different Gleason grades submitted in the same specimen container without specific site designation: should each core be assigned an individual Gleason score? *Hum Pathol*;40:558–64.
 25. Kunz Jr GM, Epstein JI. (2003). Should each core with prostate cancer be assigned a separate Gleason score? *Hum Pathol*;34:911–4.
 26. Lucia MS, Epstein JI, Goodman PJ, Darke AK, Reuter VE, Civantos F et al (2007). Finasteride and high-grade prostate cancer in the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst* 99(18):1375–83
 27. Makarov DV, Trock BJ, Humphreys EB, et al. (2007). Updated nomogram to predict pathologic stage of prostate cancer given prostate-specific antigen level, clinical stage, and biopsy Gleason score (Partin tables) based on cases from 2000 to 2005. *Urology* 69:1095–101.21,
 28. Moore CM, Kasivisvanathan V, Eggener S, Emberton M, Futterer JJ, Gill IS et al (2013). Standards of reporting for MRI-targeted biopsy studies (START) of the prostate: recommendations from an International Working Group. *Eur Urol*.
 29. Patel AA, Chen M-H, Renshaw AA, D'Amico AV (2007). PSA failure following definitive treatment of prostate cancer having biopsy Gleason score 7 with tertiary grade 5. *JAMA*. 298:1533-1538.
 30. Pierorazio PM1, Walsh PC, Partin AW, Epstein JI. (2013). Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU Int*. 111(5):753-60.
 31. Reese AC, Cowan JE, Brajtbord JS, Harris CR, Carroll PR, Cooperberg MR (2012) The quantitative Gleason score improves prostate cancer risk assessment. *Cancer* 118(24):6046–54.
 32. Ruijter E, van Leenders G, Miller G, et al. (2000). Errors in histological grading by prostatic needle biopsy specimens: frequency and predisposing factors. *J Pathol* 192:229-233.
 33. Scattoni V, Zlotta A, Montironi R et al. (2007). Extended and saturation prostatic biopsy in the diagnosis and characterisation of prostate cancer: a critical analysis of the literature. *Eur Urol*; 52: 1309–1322.
 34. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V et al (2009) Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 360(13):1320–84.
 35. Stark JR, Perner S, Stampfer MJ, Sinnott JA, Finn S, Eisenstein AS et al. (2009). Gleason score and lethal prostate cancer: does 3 + 4 = 4 + 3? *J Clin Oncol*. 27(21):3459-64.

36. Tolonen TT, Kujala PM, Tammela TL, et al (2011). Overall and worst Gleason scores are equally good predictors of prostate cancer progression. *BMC Urol.*; 11:21-26.
37. Tripod K, Thompson J, Kulaga A, Yilmaz A. (2008). How much tissue sampling is required when unsuspected minimal prostate carcinoma is identified on transurethral resection? *Arch Pathol Lab Med*;132:1313-6.
38. Van der Kwast T, Bubendorf L, Mazerolles C, et al (2013). Guidelines on processing and reporting of prostate biopsies: the 2013 update of the pathology committee of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Virchows Arch* 463:367-377.
39. Vis AN, Roemeling S, Kranse R, Schroder FH, Van der Kwast TH (2007) . Should we replace the Gleason score with the amount of highgrade prostate cancer? *Eur Urol* 51(4):931-9.
40. Zareba P, Zhang J, Yilmaz A, Trpkov K. (2009). The impact of the 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus on Gleason grading in contemporary practice. *Histopathology*; 55:384-91.

CAPITULO 4

IV. ESTUDIO MICROSCÓPICO DE LA PIEZA DE PROSTATECTOMÍA RADICAL: PARÁMETROS MÍNIMOS PARA EL CORRECTO DIAGNÓSTICO. CUANTIFICACIÓN DEL PORCENTAJE DE AFECTACIÓN Y DEL SCORE GLEASON

M^a Isabel Hierro

Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga

La última Guía Clínica del Cáncer de Próstata de la Asociación Europea de Urología (EAU) 2014 (Mottet et al 2014), recomienda el tratamiento con prostatectomía radical (PR) +/- linfadenectomía pélvica en los siguientes casos de bajo, intermedio y alto riesgo de Cáncer de próstata (CaP):

Indicación	NE	GR
En los pacientes con CaP localizado de riesgo bajo e intermedio (cT1a-T2b y GS: 2-7 y PSA <20 ng / ml) y esperanza de vida > 10 años	1b	A
Opcional		
Pacientes seleccionados con bajo volumen de CaP localizado de alto riesgo (cT3a o GS 8-10 o PSA > 20 ng / ml), a menudo en un marco de tratamiento multimodal.	2b	B
Pacientes muy seleccionados con CaP localizado de muy alto riesgo, (cT3b-T4 N0 o cualquier T N1) en el contexto de tratamiento multimodal.	3	C
No se recomienda a corto plazo (3 meses) ni a largo plazo (9 meses), la terapia neoadyuvante con análogos de la hormona liberadora de gonadotropina para el tratamiento de la enfermedad en estadio T1-T2	1a	A
Puede intentarse cirugía preservadora de nervios en pacientes potentes pre-intervención con bajo riesgo de enfermedad extracapsular (T1c, GS <7 y PSA <10 ng / ml, o según parámetros de tablas de Partin / Nomogramas)	2b	B
RM multiparámetros puede ayudar a decidir cuándo realizar procedimiento preservador de nervios en CaP de intermedio y alto riesgo.	2b	B
<i>GS = Gleason score; RM = resonancia magnética; CaP = cáncer de próstata, NE: nivel de evidencia, GR: grado de la recomendación</i>		

Respecto a la **linfadenectomía pélvica (LP)**, la Guía de CaP de la EAU recomienda que si se realiza PR, debería realizarse: 1) LP extendida en CaP de riesgo intermedio, si el riesgo estimado de ganglios positivos es superior al 5%; 2) siempre en casos de CaP de alto riesgo, por riesgo estimado de ganglios positivos del 15-40%. 3). No es necesario que sea extendida en CaP de bajo riesgo, ya que el riesgo de ganglios positivos no supera el 5%. No se recomienda en ningún caso la linfadenectomía pélvica limitada, porque se pierden por lo menos la mitad de los ganglios involucrados.

Aunque la mayoría de los pacientes con CaP órgano-confinado tendrán un pronóstico favorable, los pacientes con factores de alto riesgo seguirán un curso heterogéneo. En este contexto, un informe exacto y detallado se ha convertido en un imperativo en la actualidad (Sun 2012). Por ello es fundamental que las piezas de PR sean procesadas, evaluadas e informadas con gran precisión, para maximizar su utilidad clínica.

El diagnóstico y tratamiento del CaP ha evolucionado y requiere del patólogo un conocimiento actualizado de los criterios con valor terapéutico y pronóstico. En base a ello han tenido lugar reuniones internacionales de uropatólogos, para consensuar distintos aspectos, algunos controvertidos, del estudio e informe de las piezas de PR.

Tras realizar una revisión de la literatura inglesa publicada hasta finales de 2014 sobre el diagnóstico del CaP, gradación, estadificación e informes de la PR en CaP; considerando especialmente las recomendaciones de los grupos de trabajo convocados en la Conferencia de Consenso Internacional de la ISUP 2009 y los protocolos de CaP del Colegio Americano de Patólogos, basados en consensos, evidencias científicas y opinión de expertos, revisaremos las características de los parámetros que se deben estudiar e incluir en el informe de la pieza de PR.

IV.1. PARÁMETROS MÍNIMOS QUE DEBE INCLUIR EL INFORME DE LA PIEZA DE PROSTATECTOMIA RADICAL CON CÁNCER DE PROSTATA

- **Tipo histológico:** 90-95% de CaP son adenocarcinoma convencional (acinar)
- **Gradación o score Gleason:** patrón primario + patrón secundario (comentar presencia de un patrón terciario si es mayor que los otros dos)
- **Volumen tumoral:** % afectación de la glándula y/o tamaño del tumor ó nódulo dominante si presente (diámetro máximo +/- dimension/es adicional/es)
- **Extensión extra-prostática:** informar localización y extensión (focal vs no focal o establecida)
 - L: post, posterolateral D/I, ant, anterolat D/I, ápex y base o cuello vesical
 - E: por CGA ó mm (focal: < 1CGA o 1 mm, en máximo dos secciones;
 - No focal o establecida: dimensión máxima +/- nº de bloqs. (opcional)
- **Invasión de vesículas seminales:** requerida infiltración de pared muscular
 - Si presente: Dcha / Izda / bilateral
- **Márgenes quirúrgicos.** Negativos/ positivos:
 - Localización: uni o multifocal y especificar si intra o extraprostáticos
 - Extensión lineal de la afectación si son positivos
- **Invasión linfo-vascular:** presencia / no identificada
- **Invasión perineural:** presencia / no identificada (opcional)
- En su caso: **efecto del tratamiento en el carcinoma**
- **Ganglios linfáticos regionales:** nº positivos/nº total. Dimensión del mayor nódulo metastásico.
- **Estadificación patológica (pTNM)**
- **Hallazgos adicionales**

IV.2. CUANTIFICACIÓN DEL SCORE GLEASON

Es el factor pronóstico individual más fuerte de comportamiento clínico y respuesta al tratamiento, siendo uno de los parámetros incorporados en los distintos nomogramas que usan los urólogos para predecir el

riesgo de recurrencia después de la PR (Partin 2001). El sistema de estadificación del American Joint Committee on Cancer (AJCC) en sus últimos cambios incorpora el score Gleason y el nivel de PSA, además del TNM, para establecer los grupos pronósticos (Donovan 2011; Adamis 2014).

En 2005, la Sociedad Internacional de Patología Urológica (ISUP) convocó una conferencia de consenso sobre la clasificación de Gleason para abordar cuestiones emergentes en el campo de la gradación del CaP, basadas en la experiencia personal e institucional de un gran grupo internacional de uropatólogos (Epstein 2005). Unas pocas publicaciones desde 2005 han abordado hallazgos morfológicos para los que limitada o ninguna literatura existía como adenocarcinomas Pin-like o la gradación del patrón cribiforme o las estructuras glomeruloides (Hameed 2006, Latour 2008, Lotan 2009). La evaluación de crecimientos intraductales o gradación de estas variantes de adenocarcinoma o patrones especiales se detallarán en el capítulo 5.

Construcción del Score Gleason en la pieza quirúrgica

El score Gleason (SG) en la PR se obtiene sumando el patrón primario y el secundario, es decir el primero y el segundo más predominante (en volumen). Si sólo un patrón está presente o es mayor del 95%, este se duplica para obtener el SG. Es decir si un patrón comprende <5% del volumen del cáncer, este grado no se incorpora al SG.

Tanto el patrón primario y el secundario deben informarse, además del SG total, siendo las fórmulas más recomendadas y usadas: score Gleason 7 (4 + 3) o score Gleason 4+3=7, donde el patrón primario ó más predominante va el primero (otras formulas son confusas, por ej. "Gleason grado 4" ¿qué significa, Gleason patrón 4 (4+4=8) o 2+2=4?; ó "Gleason grado 3/5": ¿Gleason patrón 3 de 5 patrones (3+3=6) o 3+5=8?).

Una puntuación global Gleason se da cuando hay múltiples tumores o multifocalidad, pero si hay un foco tumoral claramente separado con una puntuación de Gleason superior también debe ser mencionado.

Cuando se identifica más de un tumor claramente separados, con SG diferentes, las puntuaciones de SG de los tumores individuales se deben dar por separado, o, al menos, la puntuación del SG de la lesión más significativa debe ser registrada. Por ejemplo, si hay un gran tumor en la zona de transición con SG 4 (2 + 2) y un área menor de cáncer separado, en la zona periférica, SG 8 (4 + 4), ambos resultados deben ser informados, o, al menos, la puntuación del último, en lugar de dar una puntuación promedio.

Un patrón terciario de Gleason 4 o 5, en particular si excede del 5% del volumen del cáncer, es un indicador de pronóstico desfavorable para recidiva bioquímica. La presencia de un patrón terciario de alto grado y su proporción aproximada del volumen del cáncer también debe informarse, además del SG global, por su relevancia pronóstica (Pan et al 2000; Harnden et al, 2007; Epstein 2010, 2012; Sevoll et al 2012).

IV.3. CUANTIFICACIÓN DEL PORCENTAJE DE AFECTACIÓN O DEL VOLUMEN TUMORAL

Varias consideraciones preliminares ante el análisis de este parámetro o característica del CaP: 1) la multifocalidad del cáncer de próstata es muy común, y no existe un método consensuado para su medición, 2) no está claramente definido el nódulo dominante o índice; y ambos aspectos complica la evaluación de la carga tumoral; 3) la estadificación persigue la estratificación de los pacientes por grupos pronósticos homogéneos, lo que no se evidencia en el actual subestadiaje pT2.

La clasificación vigente de TNM, subdivide el estadio patológico T2 en pT2a (tumor unilateral ocupando menos de ½ un lóbulo), pT2b (tumor unilateral mayor de ½ un lóbulo) y pT2c (tumor bilateral), resultando en la mayoría de los estudios que la enfermedad pT2b casi no existe, posiblemente porque cuando un tumor es tan grande que ocupa más de ½ lóbulo, en la mayoría de los casos existe tumor bilateral (pT2c) (Epstein 2011). Por otra parte asigna, por ejemplo, un estadio patológico menor a un solo gran tumor unilateral que a dos cánceres muy pequeños, bilaterales. Por lo tanto, el subestadiaje de cánceres pT2, usando los criterios actuales, carece de justificación.

Para justificar la notificación de un parámetro pronóstico en la práctica clínica habitual, es necesario demostrar su valor predictivo independiente de otros parámetros pronósticos establecidos. Aunque el significado pronóstico de la cuantificación del volumen del CaP y la proporción de tejido de la glán-

dula prostática afectada no se discute, pocos estudios son capaces de proporcionar evidencia de que los parámetros que reflejan el volumen de cáncer de próstata son de importancia independientemente de la puntuación de Gleason, estadio patológico y quirúrgico, estado de los márgenes (Carvalho 2000; Eichelberger. 2005). Los datos de la literatura son contradictorios en cuanto a la importancia pronóstica independiente del volumen del tumor en pacientes sometidos a PR. La explicación más probable para estos resultados discordantes se encuentra en la fuerte correlación del volumen del tumor con otros marcadores pronósticos, como la extensión extraprostática y márgenes positivos (Kikuchi 2004, Van Oort 2008).

Sin embargo, un volumen de CaP con punto de corte en 0,5 ml sigue siendo un parámetro importante para distinguir cáncer insignificante de clínicamente relevante (Dong 2008).

Medición del volumen tumoral

No existe una norma aceptada para la medición del volumen del tumor en CaP, ya que su evaluación es técnicamente más difícil que para la mayoría de otros órganos. Se han propuesto múltiples métodos: medición del diámetro del mayor foco tumoral, (Eichelberger 2005, Dvorak 2005), de contaje del número de bloques implicados, evaluación de la relación de bloques positivos/ negativos, uso de una rejilla de medida integrada, examen visual de los portaobjetos tras marcaje de todos los focos microscópicamente identificable de carcinoma o a simple vista sin marcado del tumor (Renshaw 1997, Jones 1990. Billis 2003 y 2004, Cantrell 1981, etc).

Pueden surgir complicaciones para la medición absoluta del diámetro del tumor cuando (1) el tumor se extiende más allá de la sección del porta; (2) la próstata no está totalmente incluida; o por (3) la contracción del tejido que se produce debido al procesamiento, que puede variar entre laboratorios.

En la reunión ISUP 2009 hubo gran consenso a favor de notificar el tamaño del tumor o el volumen, y a favor de un valor numérico en lugar de un descriptor subjetivo. Se consideró que en aquellos laboratorios donde la preparación de secciones completas de próstata es la rutina, las mediciones del tumor dominante sería relativamente sencillo. Por el contrario, en los laboratorios que emplean inclusión parcial de las prostatectomías, sólo puede ser factible la estimación visual del % de cáncer, el método más comúnmente utilizado para evaluar el volumen (van der Kwast 2011).

Se recomienda que cada laboratorio adopte un protocolo bien definido y estandarizado y que este deba ser utilizado por todos los patólogos de la institución. Además, sobre la base de la discusión, se recomendó que para los tumores que se considera clínicamente insignificante según los criterios establecidos, debe hacerse mención específica de ello en el informe.

En nuestra UGC utilizamos el sistema de marcado, estimación visual del % de afectación de cada sección, suma de estos porcentajes y división de este sumatorio de % por el total de secciones incluidas (lo hacemos y notificamos por lóbulo, si la afectación es bilateral). Solo cuando un nódulo tumoral independiente es claramente identificado damos sus dimensiones y localización.

Definición de nódulo tumoral índice o dominante

El concepto de tumor índice o dominante derivó del grupo de Stanford que, después de delinear los contornos de los cánceres de próstata en secciones de montaje completas, midió el volumen del tumor más grande y se correlacionó con la evolución (McNeal 1988). Este concepto está siendo desafiado por dos motivos. En primer lugar, varios estudios posteriores no han podido demostrar su importancia pronóstica y, segundo, porque el nódulo dominante no siempre representan el componente de tumor que tiene la puntuación SG más alto o el más avanzado estadio patológico.

No hubo consenso en cuanto a la definición de las características del tumor dominante o índice en una pieza de prostatectomía radical. El análisis de los resultados de la votación mostró el mayor apoyo para el concepto de que el tamaño del tumor y el grado de Gleason son los dos parámetros más importantes a considerar al definirlo. Esto significaría que si tenemos dos nódulos tumorales cada uno con una puntuación de Gleason similar, entonces el tumor más grande debe ser considerado el tumor dominante o índice. Pero

en el caso de que los dos nódulos tumorales tengan diferentes SG, el nódulo con la puntuación más alta debería ser considerado el dominante o tumor índice, independientemente de su tamaño.

Por lo tanto, *se recomienda proporcionar una estimación aproximada, en %, de la afectación por CaP de las secciones estudiadas y evaluar y documentar la mayor dimensión del nódulo tumoral dominante, si se identifica.* Aunque una definición formal de las señas de identidad del tumor dominante / índice, se mantuvo indeciso (van der Kwast et al, 2011).

IV.4. EXTENSIÓN EXTRAPROSTÁTICA

Se define la extensión extraprostática (EEP) como *carcinoma infiltrando el tejido adiposo periprostático u otros tejidos que estén más allá del contorno de la glándula.*

Así pues la enfermedad puede ser categorizada como afectando tejido conectivo laxo en el plano de la grasa o más allá, en ausencia de contacto directo con los adipocitos, o cuando infiltra el paquete neurovascular. En ciertos lugares como la próstata apical o borde anterior puede ser más complicado porque hay una escasez de grasa, pero también en estos lugares se determina EEP cuando el tumor se extiende más allá de los confines de la próstata normal. A veces hay un nódulo tumoral protruyendo claramente, que puede estar asociado con una reacción estromal desmoplásica. Se debe utilizar primero aumento de escaneo para buscar una protuberancia del tumor desde el contorno normal liso de la próstata, seguida de un aumento mayor para confirmar la ausencia de músculo liso condensado en el estroma desmoplásico. Atención en el vértice de la glándula de la próstata donde fibras de músculo esquelético puede formar parte de su composición histológica, y tumor mezclado con ellas no constituye EEP (Magi-Galluzzi 2011).

La invasión microscópica del cuello de la vejiga también se considera EEP y se debe informar como pT3a. La invasión microscópica de pequeñas fibras de músculo liso no es equiparable pronósticamente a la invasión de la pared muscular de la vejiga, no conlleva significado pronóstico independiente de recurrencia de PSA (Aydin 2004, Ploussard 2009). Un margen positivo del cuello vesical debe ser informado como una extensión extra-prostática (pT3a) con margen positivo, y no como enfermedad pT4. Estadio pT4 sólo se puede asignar cuando el tumor invade la pared muscular de la vejiga claramente, según lo determinado por el urólogo (Hoedemaeker 2000).

El consenso ISUP 2009 *acordó informar la ubicación de la extensión extraprostática y que debería ser cuantificada, aunque no hubo acuerdo sobre qué método emplear,*

No hay definiciones bien establecidas y aceptadas internacionalmente de los términos EEP "focal vs no focal /establecida o extensa". Algunos autores describen focal como "pocas glándulas" (Epstein et al 1993) o tumor de la EEP ocupando <1 campo de gran aumento (Marks et al 2007), mientras que otros miden la profundidad de la extensión en milímetros (Sung et al 2007). Actualmente se considera clínicamente útil informar del grado de extensión extraprostática, por ejemplo, menos o más de 1 de campo de gran aumento o 1 mm. *La EEP se considera focal con sólo unas pocas glándulas neoplásicas fuera de la próstata o un foco de tumor ocupando menos de 1 CGA en 1 o 2 secciones; la EEP no focal (ó establecida) está más ampliamente extendida a partir del borde de la próstata.*

IV.5. MÁRGENES QUIRÚRGICOS

Se ha informado afectación del margen quirúrgico entre un 11-38% de las PR. El estado del margen quirúrgico *es un factor de riesgo independiente para la recidiva bioquímica.* La probabilidad de estar libres de progresión para hombres con margen quirúrgico positivo en su pieza de PR es de 58-64%, en contraste con el 81-83% para pacientes que su PR mostró margen quirúrgico negativo (Tan 2011).

Un margen quirúrgico positivo se puede definir como *tumor que se extiende a la superficie de la próstata-tectomia a través del plano de tejido por donde el cirujano ha cortado.* Esto incluye tanto la falta de extirpar EEP como la incisión intraprostática (o 'capsular') de un tumor, por otra parte, órgano-confinado. Así pues *un margen positivo no es evidencia de extensión extraprostática.*

Consideraremos un margen positivo si las células tumorales están en contacto con la tinta en la superficie de la muestra y negativo si las células tumorales están cerca de la superficie tintada del margen, pero sin tocarla, o cuando están en superficie de tejido carente de cualquier tinta. El concepto de considerar un margen quirúrgico negativo si el CaP no llega a la superficie de la pieza de prostatectomía, a pesar de distancias microscópicas < 0.1 mm, ha sido apoyado por estudios que han documentado una ausencia de correlación entre distancia del margen y cualquier progresión de la enfermedad postoperatoria, recurrencia de la enfermedad o cáncer residual (Emerson 2005, Epstein 1990, Epstein and Sauvageot 1997)

Las localizaciones específicas de los márgenes positivos deben ser recogidos y especificar si es en EEP o en incisión intraprostática en cada sitio de la positividad.

En el caso de un margen apical positivo, se recomienda que una incisión intraprostática se considere su causa tan sólo cuando se observen glándulas benignas junto con las del tumor llegando a la superficie tintada y siempre y cuando se tomaran las muestras utilizando el método de cono. En el caso de tumor que se extienda hasta el margen tintado en el ápex, en ausencia de glándulas benignas seccionadas, no hubo consenso. La mayoría de los participantes recomendaron que el margen se dé como positivo, pero con la observación de que si es debido a EEP o incisión intraprostática no se puede determinar, dado los límites imprecisos de la próstata en esta región. Ante este hallazgo el patólogo debe indicar de forma explícita, que la estadificación patológica no es fiable (pT2 +). En los tejidos que tienen artefactos por aplastamiento, etc (sobre todo en ápex), puede que no podamos asignar un estado del margen quirúrgico.

Finalmente, aunque no hay pruebas suficientes para demostrar una relación entre el grado o extensión de margen positivo y el riesgo de recurrencia. Sin embargo, se recomienda dar como indicación de la extensión del margen positivo, la extensión lineal en milímetros (Tan 2011).

IV.6. INVASIÓN LINFOVASCULAR

La invasión linfovascular (ILV), definida como la **presencia inequívoca de células tumorales dentro de espacios revestidos por endotelio** o como la presencia de émbolos tumorales en pequeños vasos intraprostáticos, se encuentran entre las variables histológicas en piezas de PR que la Asociación de Directores de Anatomía Patología Quirúrgica y el Colegio Americano de Patólogos recomiendan informar tras el examen microscópico de las secciones teñidas de forma rutinaria (Epstein et al 2008). Si bien pocos estudios han evaluado su incidencia e impacto pronóstico independiente y, hasta la fecha, los resultados son contradictorios (Baydar et al 2008, Cheng et al 2005, Herman et al 2000; May et al. 2007; McNeal and Yemoto 1996).

La mayoría de los estudios no diferencian entre canales linfáticos y vasculares debido a la dificultad para diferenciarlos con microscopía óptica de rutina y porque, a efectos prácticos, ambas implican que el tumor ha alcanzado el sistema circulatorio.

Si la ILV es equívoca, el hallazgo se considera ILV negativa por la mayoría de autores. Se debe tener especial cuidado para excluir artefactos por retracción o desplazamiento mecánico de las células tumorales con la hoja del bisturí (pseudoembolo), tumor dentro de los conductos prostáticos y tumor dentro de espacios perineurales.

Aunque generalmente se evalúa con tinción de rutina (H & E), tinción IHQ con anticuerpos contra CD31 (marcador panendotelial) o CD34 (marcador endotelial de vaso sanguíneo) ha sido utilizada por algunos autores para identificar casos dudosos. Inmuntinción con anti D2-40 (podoplanina) marca vasos linfáticos y algunos autores han encontrado la presencia de invasión de vasos linfáticos peritumorales asociada significativamente con metástasis a ganglios linfáticos regionales

Tras la reunión de la ISUP 2009, el grupo de trabajo que abordó la ILV, consensuó que la invasión linfovascular debe informarse en el examen rutinario de las piezas de PR.

IV.7. INVASIÓN PERINEURAL

La invasión perineural (IPN), definida como *el seguimiento o infiltración del cáncer a lo largo, en o circunferencialmente alrededor de un nervio*, es relativamente omnipresente en la pieza de PR. Hay datos contradictorios en cuanto a si la IPN predice la recurrencia después de cirugía o radioterapia. Su valor como factor pronóstico independiente ha sido cuestionada en un análisis multivariante (Vargas et al, 1999). Importante destacar el meta-análisis realizado por Harnden et al. que encuentra que los estudios que analizan la IPN en grupos específicos de pacientes estratificados por niveles de PSA, estadio clínico, SG, y/o la extensión del tumor en la biopsia, han encontrado que es un factor pronóstico independiente (Harnden 2007).

Teniendo en cuenta la relativa facilidad de identificar IPN y su propuesta importancia en, al menos, algunos grupos de pacientes, muchos patólogos informan rutinariamente este hallazgo (Fine et al, 2012). Otros anatomopatólogos consideran que la IPN no tiene ninguna utilidad como factor pronóstico e incluso no la mencionan en sus informes.

Actualmente es un parámetro opcional, que no se usa para decidir el manejo clínico, si bien se recoge en la mayoría de los protocolos internacionalmente aceptados como los del CAP, con nota donde aclara que estos elementos pueden ser clínicamente importantes, pero aún no se han validado o utilizado regularmente en el tratamiento del paciente (Srigley 2012).

IV.8. VESICULAS SEMINALES

Tras la Conferencia de Consenso ISUP 2009, las principales recomendaciones, tras el trabajo del grupo 4 sobre el estudio de las vesículas seminales fueron (Berney et al 2011):

- que sólo debe ser considerada como invasión de la vesícula seminal la invasión de la pared muscular de la vesícula seminal extraprostática.
- que la inclusión completa de las vesículas seminales no era necesaria, aunque una muestra de la unión de las vesículas seminales y la próstata era obligatoria.
- que la toma de muestras de los márgenes de los conductos deferentes no era obligatorio.
- que no es necesaria la categorización en tipos de la propagación de CaP a la vesícula seminal.

IV.9. EXAMEN DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS

El mismo grupo 4, trabajó sobre la forma de estudiar e informar los ganglios linfáticos (Berney et al 2011). No hubo consenso sobre el método de muestreo óptimo para los ganglios linfáticos pélvicos de la pieza de disección. Hubo consenso sobre:

- que las técnicas especiales como secciones de tejido congelado, solo se usen para casos de alto riesgo.
- que todos los ganglios linfáticos deben ser completamente incluidos.
- que un recuento del número de ganglios linfáticos recabados debe ser tratado, contabilizando nº de ganglios positivos/nº ganglios totales.
- que el diámetro del mayor nódulo linfático metastásico debe medirse e informarse.

IV.10. ESTADIFICACIÓN PATOLÓGICA (pTNM)

Se recomienda el sistema de estadificación TNM de la Unión Internacional contra el Cáncer para la estadificación patológica del CaP (Epstein et al 2005).

Entre las principales modificaciones, tras la conferencia de consenso ISUP 2009, está el subestadiaje patológico de *pT2 que actualmente es opcional*, ya que no se correlaciona con la clínica y carece de claro valor pronóstico (Van der Kwast et al, 2011) y en la EEP. Hubo gran consenso en que la invasión microscópica del cuello de la vejiga urinaria por el carcinoma se debe registrar como **pT3a**, ya desarrollado en el apartado de EEP.

El estadio **pT4** se define como la invasión directa del recto o la invasión macroscópica de la vejiga urinaria, esfínter externo, los músculos elevadores y / o pared pélvica, con ó sin fijación. Aunque los pacientes con grandes masas voluminosas que afectan estas estructuras no son típicamente candidatos a PR es posible asignar una categoría pT4 a una pieza de PR en el caso poco común de que haya por ej una biopsia de acompañamiento con CaP en uno de estos sitios. Esta infiltración por CaP también puede ocurrir a través de invasión linfovascular, sin propagación contigua (Bates 2000).

Estas decisiones de consenso ayudaran a aclarar o al menos a unificar la evaluación de áreas difíciles de la patológica en las piezas de prostatectomía radical, uniformando los criterios y datos de los informes, lo que mejorará la concordancia de distintas series de investigación, permitiendo una evaluación más precisa del pronóstico del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adamis S, Varkarakis IM. Defining prostate cancer risk after radical prostatectomy. *Eur J Surg Oncol*. 2014; 40(5):496-504.
2. Aydin H, Tsuzuki T, Hernandez D, et al. Positive proximal (bladder neck) margin at radical prostatectomy confers greater risk of biochemical progression. *Urology* 2004 Sep; 64(3):551-5.
3. Bates AW, Baithun SI. Secondary neoplasms of the bladder are histological mimics of nontransitional cell primary tumours: clinicopathological and histological features of 282 cases. *Histopathology* 2000; 36:32-40
4. Baydar DE, Baseskioglu B, Ozen H, et al. Prognostic significance of lymphovascular invasion in clinically localized prostate cancer after radical prostatectomy. *ScientificWorld Journal* 2008; 8:303-312.
5. Berney D, Wheeler MT, Grignon DJ et al. ISUP Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 4: seminal vesicles and lymph nodes. *Modern Pathology* 2011; 24, 39-47.
6. Billis A, Magna LA, Ferreira U. Correlation between tumor extent in radical prostatectomies and preoperative PSA, histological grade, surgical margins, and extraprostatic extension: application of a new practical method for tumor extent evaluation. *Int Braz J Urol* 2003;29:113-20.
7. Billis A, Freitas LLL, Magna LA, et al. Prostate cancer with bladder neck involvement: pathologic findings with application of a new practical method for tumor extent evaluation and recurrence-free survival after radical prostatectomy. *Int Urol Nephrol* 2004;36: 363-368.
8. Cantrell BB, DeKlerk DP, Eggleston JC, et al. Pathologic factors that influence prognosis in stage a prostatic cancer: the influence of extent versus grade. *J Urol* 1981;125:516-520.
9. Carvalhal GF, Humphrey PA, Thorson P, et al. Visual estimate of the percentage of carcinoma is an independent predictor of prostate carcinoma recurrence after radical prostatectomy. *Cancer* 2000; 89:1308-1314.
10. Cheng L, Jones TD, Lin H, et al. Lymphovascular invasion is an independent prognostic factor in prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 2005;174:2181-2185.
11. Dong F, Kattan MW, Steyerberg EW, et al. Validation of pretreatment nomograms for predicting indolent prostate cancer: efficacy in contemporary urological practice. *J Urol* 2008 Jul; 180(1):150-4.

12. Donovan MJ1, Costa J, Cordon-Cardo C. Personalized approach to prostate cancer prognosis. *Arch Esp Urol*. 2011 Oct;64(8):783-91
13. Dvorak T, Chen MH, Renshaw AA, et al. Maximal tumor diameter and the risk of PSA failure in men with specimen-confined prostate cancer. *Urology* 2005;66: 1024–1028.
14. Eichelberger LE, Koch MO, Eble JN, et al. Maximum tumor diameter is an independent predictor of prostate specific antigen recurrence in prostate cancer. *Mod Pathol* 2005; 18:886–890.
15. Emerson RE, Koch MO, Daggy JK, et al. Closest distance between tumor and resection margin in radical prostatectomy specimens: lack of prognostic significance. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 225–229.
16. Epstein JI. Evaluation of radical prostatectomy capsular margins of resection. The significance of margins designated as negative, closely approaching, and positive. *Am J Surg Pathol* 1990;14:626–632.
17. Epstein JI, Carmichael MJ, Pizov G, et al. Influence of capsular penetration on progression following radical prostatectomy: a study of 196 cases with long-term followup. *J Urol* 1993 Jul;150(1):135-41.
18. Epstein JI, Sauvageot J. Do close but negative margins in radical prostatectomy specimens increase the risk of postoperative progression? *J Urol* 1997;157:241–243.
19. Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al.; ISUP grading committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005 Sep;29(9):1228-42.
20. Epstein JI, Srigley J, Grignon D, et al. Recommendations for the reporting of prostate carcinoma: Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. *Am J Clin Pathol* 2008; 129:24–30.
21. Epstein JI. An Update of the Gleason Grading System. *J Urol*. 2010; Vol. 183, 433-440
22. Epstein JI. Prognostic significance of tumor volume in radical prostatectomy and needle biopsy specimens. *J Urol*. 2011; 186(3):790-97.
23. Fine SW, Amin MB, Berney DM, et al. A contemporary update on pathology reporting for prostate cancer: biopsy and radical prostatectomy specimens. *Eur Urol* 2012;62:20–39..
24. Hameed O, Humphrey PA. Stratified epithelium in prostatic adenocarcinoma: a mimic of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2006; 19:899–906.
25. Harnden P, Shelley MD, Clements H, et al. The prognostic significance of perineural invasion in prostatic cancer biopsies: a systematic review. *Cancer* 2007;109:13–24.
26. Herman CM, Wilcox GE, Kattan MW, et al. Lymphovascular invasion as a predictor of disease progression in prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2000;24:859–863.
27. Harnden P, Shelley MD, Coles B, et al. Should the Gleason grading system for prostate cancer be modified to account for high-grade tertiary components? A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncology* 2007; 8(5):411-9.

28. Hoedemaeker RF, Vis AN, Van Der Kwast TH. Staging prostate cancer. *Microsc Res Tech* 2000; 51(5):423-9.
29. Jones EC. Resection margin status in radical retropubic prostatectomy specimens: relationship to type of operation, tumor size, tumor grade and local tumor extension. *J Urol* 1990; 144: 89–93.
30. Kikuchi E, Scardino PT, Wheeler TM, et al. Is tumor volume an independent prognostic factor in clinically localized prostate cancer? *J Urol* 2004; 172(2):508-11.
31. Latour M, Amin MB, Billis A, et al. Grading of invasive cribriform carcinoma on prostate needle biopsy: an interobserver study among experts in genitourinary pathology. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:1532–9.
32. Loeb S, Roehl KA, Yu X, et al. Lymphovascular invasion in radical prostatectomy specimens: prediction of adverse pathologic features and biochemical progression. *Urology* 2006;68:99–103.
33. Lotan TL, Epstein JI. Gleason grading of prostatic adenocarcinoma with glomeruloid features on needle biopsy. *Hum Pathol* 2009; 40:471–7.
34. May M, Kaufmann O, Hammermann F, et al. Prognostic impact of lymphovascular invasion in radical prostatectomy specimens. *BJU Int* 2007; 99:539–544.
35. McNeal JE, Price HM, Redwine EA, et al. Stage A versus stage B adenocarcinoma of the prostate: morphological comparison and biological significance. *J Urol* 1988; 139:61–65.
36. McNeal JE, Yemoto CE. Significance of demonstrable vascular space invasion for the progression of prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1996; 20:1351–1360.
37. Magi-Galluzzi C, Evans AJ, Delahunt B, et al. ISUP Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Mod Pathol* 2011; 24(1):26-38.
38. Marks RA, Lin H, Koch MO, et al. Positive-block ratio in radical prostatectomy specimens is an independent predictor of PSA recurrence. *Am J Surg Pathol* 2007; 31:877-81.
39. Marks M, Koch MO, Lopez-Beltran A, et al. The relationship between the extent of surgical margin positivity and prostate specific antigen recurrence in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol*. 2007; 38(8):1207-11.
40. Mottet N, Bastian PJ, Bellmunt J et al. Guidelines on Prostate Cancer 2014. European Association of Urology. <http://www.uroweb.org>.
41. Pan CC, Potter SR, Partin AW and Epstein JI . The prognostic significance of tertiary Gleason patterns of higher grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *Am J Surg Pathol*. 2000; 24(4):563–569.
42. Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, et al. Contemporary update of the prostate cancer staging nomograms (Partin tables) for the new millennium. *Urology* 2001 Dec;58(6):843-8.

43. Ploussard G, Rotondo S, Salomon L. The prognostic significance of bladder neck invasion in prostate cancer: is microscopic involvement truly a T4 disease? *BJU Int* 2009;105(6):776-81.
44. Renshaw AA, Chang H, D'Amico AV. Estimation of tumor volume in radical prostatectomy specimens in routine clinical practice. *Am J Clin Pathol* 1997; 107:704–708.
45. Sevoll E, Saeter T and Vlatkovic L et al (). Impact of a tertiary Gleason pattern 4 or 5 on clinical failure and mortality after radical prostatectomy for clinically localised prostate cancer. *BJU Int*. 2012; 109:1489-1494.
46. Shariat SF, Khoddami SM, Saboorian H, et al. Lymphovascular invasion is a pathological feature of biologically aggressive disease in patients treated with radical prostatectomy. *J Urol* 2004;171:1122–1127.
47. Smith Jr JA, Chan RC, Chang SS, et al. A comparison of the incidence and location of positive surgical margins in robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy and open retropubic radical prostatectomy. *J Urol* 2007; 178:2385–2389.
48. Srigley JR, Amin MB, Epstein JI, et al. Updated protocol for the examination of specimens from patients with carcinomas of the prostate gland. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130:936–946.
49. Srigley JR, Humphrey PA, Amin MB et al. , Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland Protocol. June 2012. Cancer Protocols - College of American Pathologists. www.cap.org/cancerprotocols.
50. Stamey TA, McNeal JE, Yemoto CM, et al. Biological determinants of cancer progression in men with prostate cancer. *JAMA* 1999;281:1395–1400.
51. Sun M, Bianchi M, Hansen J, Karakiewicz PI. Insights of Modern Pathology Reports Originating from Prostate Biopsy and Radical Prostatectomy Specimens. *Eur Urol* 2012; 62:40-41.
52. Sung MT, Lin H, Koch MO, et al. Radial distance of extraprostatic extension measured by ocular micrometer is an independent predictor of prostate-specific antigen recurrence: A new proposal for the substaging of pT3a prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(2):311-18.
53. Tan PH, Cheng L, Srigley et al and the ISUP Prostate Cancer Group* (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 5: surgical margins. *Modern Pathology* 2011; 24: 48–57.
54. van der Kwast TH, Amin MB, Billis A, et al. ISUP Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Modern Pathology* (2011) 24, 16–25
55. Van Oort IM, Witjes JA, Kok DE, et al. Maximum tumor diameter is not an independent prognostic factor in high-risk localized prostate cancer. *World J Urol* 2008 Jun;26(3):237-41.
56. Vargas SO, Jiroutek M, Welch MR, Nucci MR, D'Amico AV, Renshaw AA. Perineural invasion in prostate needle biopsy specimens: correlation with extraprostatic extension at resection. *Am J Clin Pathol*. 1999; 111:223-228.

CAPÍTULO 5

V. DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA: TIPOS Y SUBTIPOS HISTOLÓGICOS. GRADACIÓN HISTOLÓGICA. DIAGNOSTICO POST-TRATAMIENTO

Julian Sanz

Hospital Clínico San Carlos, Madrid

V.1. TIPOS Y SUBTIPOS HISTOLÓGICOS:

a) **Adenocarcinoma acinar:** el más habitual. Si no se especifica nada, se sobreentiende que el cáncer de próstata es un adenocarcinoma acinar.

Variantes de adenocarcinoma acinar:

- **Células espumosas** (xantomatosas): con citoplasma xantomatoso y frecuentes secreciones luminales. Son típicamente Gleason 3+3=6 aunque es posible grados más altos (ISUP recomienda excluir citoplasma espumoso para valorar patrón).
- **Atrófica:** Patrón infiltrativo con aspecto atrófico, pérdida de marcadores basales. Hay que buscar zonas de adenocarcinoma de aspecto más usual. Gleason suele ser 6, pero puede ser 7.
- **Seudohiperplásica:** Glándulas grandes, papilas y frecuentemente secreciones y cristaloides. Gleason 3+3=6 habitualmente.
- **Células en anillo de sello:** Raro. Mal pronóstico y habitualmente Gleason 8 o superior.
- **Otras variantes:** linfopitelioma (alto grado y mal pronóstico), oncocítica (muy raro, no hay recomendaciones de gradación), microquística (bajo grado).

Tabla 1 - Recomendaciones para Informar el Gleason de las variantes de adenocarcinoma acinar y otros tipos de carcinoma de próstata

VARIANTE/TIPO	GRADO Ó PATRÓN DE GLEASON
V. Atrófica	3
V. Pseudohiperplásica	3
V. Espumoso	3 o 4 (dependiendo de la arquitectura gl)
V. Vacuolas	3, 4, o 5 (extraer las vacuolas / gradar según arquitectura)
AC Mucinoso (coloide)	4 (sobre la base de mucina extracelular solo) ó 3 o 4 (extraer la mucina / gradar según arquitectura)
AC Ductal	4 *
Ca Sarcomatoide	5 (componente glandular clasifica por separado)
Ca de células en anillo de Sello	5
Ca de células Pequeñas / neuroendocrino	No gradar
Ca de células Escamosas	No gradar
Ca Basaloide	No gradar

b) **Carcinoma ductal:** (0.5-1%). Sólo o en combinación con acinar. Patrón papilar o cribiforme. A veces patrón sólido. Hay que distinguirlo sobre todo de PIN de alto grado. Ambos pueden tener un patrón parcheado de pérdida de células basales, aunque si es extensa la pérdida se excluye PIN. Otras características para el diagnóstico diferencial son: presencia de auténticas papilas y no sólo micropapilas, Pleomorfismo/mitosis (más frecuentes en ductal) y sobre todo la presencia de amplia Comedonecrosis (ausente en PIN). Si no es posible en una lesión pequeña completar el diagnóstico diferencial (ver Capítulo 6.1) se recomienda

comentario diagnóstico y solicitar nueva biopsia. El comportamiento del adenocarcinoma ductal suele ser análogo al Adenocarcinoma acinar Gleason 4+4= 8 y recomendamos gradarlo así.

- c) Carcinoma intraductal (CID):** en 2.5-3% de biopsias. Similar al anterior pero preservando células basales, debe también distinguirse de PIN. Casi siempre se encuentra junto a un adenocarcinoma de alto grado (patrones 4 y 5), pero independientemente de ello, por sí mismo supone un factor de mal pronóstico. Posibles situaciones:
- CID + Adenocarcinoma infiltrante de alto grado: Lo más frecuente. Hay que reportarlo.
 - CID sólo: hay que recomendar repetir biopsia.
 - En los raros casos en los que se observa CID asociado a adenocarcinoma 3+3, hay dos opciones: Diagnosticar la lesión como 3+4 ó 3+5 (si hay necrosis) o diagnosticarlo de 3+3 y CID con un comentario sobre su significado clínico.
- d) Carcinoma mucinoso/coloide** Excluir origen extraprostático siempre. Difícil de gradar, si hay células sueltas o en hilera flotando en mucina no hay consenso, pero sí en dar patrón 4 a glándulas cribiformes flotando en mucina.
- e) Carcinoma de células pequeñas y tumores neuroendocrinos:**
Los criterios diagnósticos son igual que en neuroendocrinos pulmonares.
- El microcítico es el más usual (1%), más frecuentemente asociados a un adenocarcinoma acinar que en forma pura. Es indistinguible si es primario o secundario (TTF1 no es útil). El principal diagnóstico diferencial es el Gleason 5. Si es mixto recomendamos dar el porcentaje de componentes acinar y microcítico y dar Gleason del componente acinar. Importante valorar la extensión extraprostática y nivel de infiltración y localizar si es posible dónde está el componente microcítico.
 - Adenocarcinoma acinar con diferenciación neuroendocrina (NE) focal. Casi todos los adenocarcinomas acinares tienen alguna célula NE por lo que recomendamos el empleo del término a diferenciación extensa que no encaja en otras categorías de tumores NE. (No existe un consenso más preciso de cuando usar el término).
 - Carcinoide y Carcinoma NE de células grandes. No usar Gleason.
- f) Carcinoma urotelial:** Es raro que sea primario de próstata por lo que hay que descartar en primer lugar infiltración de uno de vejiga (pT4) o uretra. Criterios de diagnóstico y gradación idénticos a vejiga, no usar Gleason. Diagnóstico diferencial con Carcinoma intraductal y PIN. Puede ser también un Carcinoma in situ (CIS). En ocasiones un CIS puede extenderse por el conducto eyaculador hasta vesículas seminales. Tiene peor pronóstico si es de origen vesical a si es realmente un urotelial primario prostático.
- g) Otros:** Carcinoma sarcomatoide, Carcinoma adenoide quístico, carcinoma con diferenciación escamosa/epidermoide, basalioide, tumores del estroma prostático, adenocarcinoma de vesícula seminal....No gradar con Gleason.

V.2. GRADACIÓN HISTOLÓGICA:

• Gleason (primario + secundario) por cilindro, contenedor o global:

El Gleason modificado 2005 ISUP y AFIP 2011, según hemos visto en capítulos anteriores, debe darse en:

- RTU y cilindros: si se reciben en distintos contenedores, dar un Gleason para cada contenedor. Si hay cilindros con distinto Gleason se recomienda dar un Gleason global de todos los cilindros enviados en conjunto y además se puede dar un Gleason por cilindro, según las recomendaciones comentadas en otros capítulos. Es opcional dar un Gleason global conjunto entre todos los frascos remitidos.
- Todas las piezas de prostatectomía radical con adenocarcinoma, a excepción de las que muestran cambios morfológicos derivados de la privación de andrógenos o la radioterapia. Si hay varios nódulos claramente diferenciados, se da el Gleason de cada uno.

• Gleason terciario

No debe darse en cilindros, dándose en ellos el más frecuente y el más alto, pero comentando los distintos patrones encontrados. En piezas de prostatectomía radical, sí se da: Cuando el grado terciario (generalmente de grado 5) es superior al primario y secundario, debe darse en el diagnóstico. Hay diferencias interobserva-

dor importantes en la distinción entre cortes tangenciales de glándulas mal formadas (Gleason 4) y células sueltas (Gleason 5), por lo que recomendamos seguir las glándulas/células en distintos niveles e incluso el uso de inmunohistoquímica (CK AE1/AE4). Hay evidencia de que pequeños volúmenes de grado 4 y 5 terciario, están asociados con rasgos patológicos agresivos y un mayor riesgo de recurrencia.

V.3. DIAGNÓSTICO DEL EFECTO POST-TRATAMIENTO:

Hay que especificar (requerido) si se observa efecto post-tratamiento, en células epiteliales, estroma o vasos. Recomendamos clasificarlo según los criterios de Evans (leve, moderado y severo) y la Tabla ya comentada en el Capítulo 2. Los más importantes son:

Efecto de terapia hormonal: En la próstata normal se observa atrofia glandular, hiperplasia de células basales. En el adenocarcinoma hay vacuolización de citoplasma, picnosis nuclear, núcleos desnudos, extravasación de mucina, glándulas más pequeñas y estroma colágeno que pueden originar una sobregración...

Efecto de radioterapia: Alteraciones vasculares (luces disminuidas, proliferación miointimal, trombos), fibrosis con fibroblastos atípicos. En células epiteliales hay atrofia, hiperplasia de células basales, metaplasia escamosa o mucinosa... Las glándulas normales pueden tener atipia, por lo que el diagnóstico de adenocarcinoma se hace por criterios arquitecturales más que citológicos. La braquiterapia da cambios similares.

En el supuesto de identificarlos (salvo cuando este efecto es mínimo) se recomienda no gradar el tumor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Berney D. M., Algaba F., Camparo P., et al (2014): Variation in reporting of cancer extent and benign histology in prostate biopsies among European pathologists. *Virchow Archives* 464: 583-587
2. Bullock MJ1, Srigley JR, Klotz LH, Goldenberg SL (2002): Pathologic effects of neoadjuvant cyproterone acetate on nonneoplastic prostate, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: a detailed analysis of radical prostatectomy specimens from a randomized trial. *Am J Surg Pathol* 26(11):1400-13.
3. De Torres Ramírez I. (2007); *Actas Urol Esp.* 31(9):1025-1044.
4. Epstein JI, Allsbrook WCJ, Amin MB and Egevad LL (2005). The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 29(9):1228-1242.
5. Evans AJ, Ryan P, Van derKwast T (2011) Treatment effects in the prostate including those associated with traditional and emerging therapies. *Adv Anat Pathol* 18(4):281-93.
6. Fajardo DA, Miyamoto H, Miller JS, Lee TK and Epstein JI (2011). Identification of Gleason pattern 5 on prostatic needle core biopsy: frequency of underdiagnosis and relation to morphology. *Am J Surg Pathol* 35:1706-1711.
7. Gleason DF (1966). Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemoth Rep* 50(3):125-8.
8. Hansel DE and Epstein JI (2006). Sarcomatoid carcinoma of the prostate. A study of 42 cases. *Am J Surg Pathol* 30:1316-1321.
9. Humphrey PA (2012);: Histological variants of prostatic carcinoma and their significance *Histopathology* 60, 59-74.

10. Ikenberg K, Zimmermann A-K and Kristiansen G (2010). Re: Tertiary gleason patterns and biochemical recurrence after prostatectomy: proposal for a modified Gleason scoring system. *J. Urol.* 183:2100-2210.
11. Pan CC, Potter SR, Partin AW and Epstein JI (2000). The prognostic significance of tertiary Gleason patterns of higher grade in radical prostatectomy specimens: a proposal to modify the Gleason grading system. *Am J Surg Pathol* 24(4):563-569.
12. Sevoll E, Saeter T and Vlatkovic L et al (2012). Impact of a tertiary Gleason pattern 4 or 5 on clinical failure and mortality after radical prostatectomy for clinically localised prostate cancer. *BJU Int* 109:1489-1494.
13. WHO (World Health Organization) (2004). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organ. Eble JN, Sauter G, Epstein JI and Sesterhenn IA. IARC Press, Lyon, France.

CAPÍTULO 6

VI. RECOMENDACIONES PARA LA EMISIÓN DE UN INFORME PROTOCOLIZADO.

Julian Sanz

Hospital Clínico San Carlos, Madrid

VI.1. CONSIDERACIONES PREVIAS:

- a) El **objetivo** del informe anatomopatológico es ayudar al clínico a tomar las decisiones más correctas que afectan al manejo del paciente, siendo especialmente importante contribuir de la manera más eficaz a la resolución de las siguientes cuestiones:
 - *¿Quién necesita tratamiento?* En este sentido es crucial nuestro papel para identificar los candidatos a vigilancia activa o tratamiento diferido ("watchful waiting"), normalmente tumores Gleason 3+3=6, con menos de dos cilindros afectados y < 50% del cilindro afectado. Es muy importante el criterio para la cuantificación del tumor especialmente en los casos con escasa afectación, de las diferentes opciones de cuantificación del % de cilindro afectado (ver preguntas frecuentes).
 - *¿Qué tipo de tratamiento – cirugía, radiación, braquiterapia, hormonal, combinaciones?* Aquí, son fundamentales el Gleason, la extensión extraprostática (difícil de valorar en cilindros, recordar que la presencia de tumor en músculo esquelético o células ganglionares no garantiza extensión extraprostática), márgenes y Gleason en margen e infiltración perineural.
- b) Es importante reflejar claramente en el informe el procedimiento (RTU, cilindros u prostatectomía) y en caso de recibir varios frascos o "containers", los datos clínicos de **filia**ción de cada uno. (Ej: "cilindros de ápex derecho"). Recomendamos, en el caso de biopsias por cilindros, diagnósticos para cada muestra remitida por separado.
- c) Es importante la **homogeneidad** de los informes, se recomienda el uso de plantillas y macros, incluso cuando sea posible para notas y comentarios diagnósticos (ej: acúmulos glandulares atípicos), con referencias bibliográficas si es pertinente.
- d) *No siempre hay que llegar a un diagnóstico definitivo.* Además del diagnóstico de "Acúmulo glandular atípico", que hay que usar con moderación, es posible emitir comentarios diagnósticos en los que se plantea un diagnóstico diferencial (Ej: PIN vs ductal o glándulas tangenciales de PIN vs Adenocarcinoma, adenosis vs adenocarcinoma en contexto inflamatorio, etc.), y se explica que los criterios morfológicos y/o inmunohistoquímicos son insuficientes, discrepantes o no concluyentes y se recomienda repetición de biopsia para llegar a diagnóstico definitivo.
- e) Para las siguientes recomendaciones nos basaremos en CAP, ISUP e ICCR (International Collaboration on Cancer Reporting).

VI.2. BIOPSIAS POR CILINDRO:

Qué poner en el diagnóstico y qué en microscópico:

Las siguientes variables que deben figurar en el informe:

1. Tipo histológico: Adenocarcinoma (acinar)/ otros subtipos
2. Gleason (ver capítulos 4 y 5)
3. Cantidad de tumor y proporción. Localización. (ver capítulos 4 y 5). Debe incluir el número de cilindros afectados, % por cilindro (obligatorio), y la longitud en mm (recomendado).
4. Infiltración: Si se identifican y si hay infiltración de: perineural, grasa periprostática o de vesículas seminales.
5. Infiltración linfo-vascular, si/no.
6. Otros hallazgos (especificar): efecto tratamiento, prostatitis, PIN, atrofia...

Las tres primeras deben figurar en el diagnóstico, y las otras pueden figurar también como parte del diagnóstico o figurar en el microscópico. Como hemos comentado anteriormente, se recomienda un diagnóstico específico para los cilindros enviados en cada contenedor separado. Recomendamos emplear plantillas estructuradas (ver anexo I), para contenedores con adenocarcinoma, que si son varios se pueden unificar para hacer un informe más simplificado.

VI.3. RTU:

Las siguientes variables que deben figurar en el informe:

1. Tipo histológico: Adenocarcinoma acinar)/ otros subtipos. Si es menos del 5% del tejido y Gleason 6 o menor, se diagnostica como adenocarcinoma incidental.
2. Gleason (ver capítulos 4 y 5)
3. Cantidad de tumor y proporción. Debe incluir el número de fragmentos afectados y/o, % del total de tejido en todos los fragmentos cilindro (obligatorio).
4. Infiltración: Si se identifican y si hay infiltración de: perineural, grasa periprostática o de vesículas seminales.
5. Infiltración linfo-vascular, si/no.
6. Otros hallazgos (especificar): efecto tratamiento, prostatitis, PIN, adenosis, atrofia...

VI.4. PROSTATECTOMÍA

Las siguientes variables deben figurar en el informe:

1. Tipo histológico (requerido): Adenocarcinoma (acinar)/ otros subtipos.
2. Gleason (requerido). (Ver capítulos 4 y 5).
3. Cantidad de tumor y proporción. Localización (requerido). (ver capítulos 4 y 5).
4. Extensión extraprostática EEP, (requerido). Es un importante Predictor de recurrencia. No recomendamos hablar de extensión extracapsular porque la próstata no tiene realmente una cápsula. Es complicado en ápex, base y pared anterior. Creemos requerido diferenciar EEP focal vs no-focal ('extensa'): Si > ó < a 1 CGA en máximo de 2 focos. Como "recomendable" además especificar la localización de la extensión extraprostática.
5. Márgenes (requerido). Positivo si hay presencia de células epiteliales en la tinta. Si está presente hay que precisar su localización, extensión (en mm) y el patrón de Gleason en ese margen. También hay que especificar si ese margen positivo es extraprostático o está en una zona de incisión intraprostática. Si hay varios márgenes positivos, se recomienda describirlos y dar como medida la suma de todos ellos. Recomendamos no mencionar cuando sólo se observa la proximidad al margen, ya que no ha demostrado tener valor pronóstico y crea incertidumbre.
6. Infiltración:
 - Infiltración perineural, si/no.
 - Vesículas seminales. Exige ver la neoplasia en la pared muscular.
 - Describir lateralidad

- Infiltración linfo-vascular. No es práctico ni necesario distinguir entre infiltración venosa y/o linfática. Es importante que sea clara, y en caso de duda confirmar con inmunohistoquímica.
- 7. Ganglios linfáticos: Hay que numerar cuantos se han identificado y cuantos son metastásicos (requerido) y se recomienda en caso de metástasis describir la lateralidad (izquierda, derecha o bilateral) y la dimensión de la metástasis de mayor tamaño.
- 8. Otros hallazgos (especificar): efecto tratamiento, prostatitis, PIN, atrofia...
- 9. Estadío: Usar siempre TNM 7th: Especificar y añadir prefijo si es m (multiple), r (recurrente), o (posttratamiento).

Las dos primeras y el estadío deben figurar en el diagnóstico, y las otras pueden figurar también como parte del diagnóstico o figurar en el microscópico. Es posible, si las ponemos en el microscópico, añadir también en diagnóstico las más clínicamente relevantes en ciertos casos como la presencia de márgenes positivos o extensión extraprostática. Recomendamos emplear plantillas estructuradas (ver anexo II)

BIBLIOGRAFÍA

1. Alkhateeb S, Alibhai S and Fleshner N et al (2010). Impact of a positive surgical margin after radical prostatectomy differs by disease risk group. *J Urol* 183:145-150.
2. Cao D, Kibel AS, Gao F, Tao Y and Humphrey PA (2010). The Gleason score of tumor at the margin in radical prostatectomy specimens is predictive of biochemical recurrence. *Am J Surg Pathol* 34:994-100
3. Chuang AY and Epstein JI (2008). Positive surgical margins in areas of capsular incision in otherwise organ-confined disease at radical prostatectomy: histologic features and pitfalls. *Am J Surg Pathol* 32(8):1201–1206.
4. Edge SE, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL and Trotti A (eds) (2010). *AJCC Cancer Staging Manual* 7th ed., New York, NY.: Springer.
5. Epstein JI, Allsbrook WCJ, Amin MB and Egevad LL (2005). The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 29(9):1228–1242.
6. Epstein JI, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Humphrey PA, Mikuz G, Newling D, Nilsson S, Sakr W, Srigley JR, Wheeler TM and Montironi R (2005). Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 216:34–63.
7. Epstein JI, Berman DM (2014): When is Prostate Cancer Really Cancer? *Urol Clin N Am* 41: 339–346.
8. Kirk D. Jones, Andrew Churg, Douglas W. Henderson, David M. Hwang, Jenny Ma Wyatt, Andrew G. Nicholson, Alexandra J. Rice, Mary Kay Washington, and Kelly J. Butnor (2013) Data Set for Reporting of Lung Carcinomas: Recommendations From International Collaboration on Cancer Reporting. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 137, No. 8, pp. 1054-1062
9. Magi-Galluzzi C, Evans AJ, Delahunt B, Epstein JI, Griffiths DF and van der Kwast TH et al (2011). International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on handling and staging of radical prostatectomy specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Mod Pathol* 24:26-38.

10. Pfitzenmaier J, Pahernik S, Tremmel T, Haferkamp A, Buse S and Hohenfellner M (2008). Positive surgical margins after radical prostatectomy: do they have an impact on biochemical or clinical progression? *BJU Int* 102(10):1413–1418.
11. Rodriguez-Covarrubias F, Larre S, Dahan M, De La Taille A, Allory Y, Yiou R, Vordos D, Hoznek A, Abbou CC and Salomon L (2009). Prognostic significance of microscopic bladder neck invasion in prostate cancer. *BJU Int* 103(6):758–761.
12. Sung MT, Lin H and Koch MO et al (2007). Radial distance of extraprostatic extension measured by ocular micrometer is an independent predictor of prostate specific antigen recurrence: a new protocol for the substaging of pT3a prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 31:311-318.
13. Van der Kwast TH, Amin MB, Billis A, Epstein JI, Griffiths D and Humphrey PA et al (2011). International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on handling and staging of radical prostatectomy specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Mod Pathol* 24:16-25.
14. Wittekind C (ed) (2012). *TNM Supplement : A Commentary on Uniform Use*, The Union for International Cancer Control (UICC), Wiley-Blackwell.
15. Wolters T, Roobol MJ and van Leeuwen PJ et al (2010). Should pathologist routinely report prostate tumor volume? The prognostic value of tumor volume in prostate cancer. *Eur Urol* 57(5):735-920.

ANEXO I: Espécimen: BIOPSIA POR CILINDROS.

Filiación/localización: ".....":

Diagnóstico:

1. Tipo histológico: Adenocarcinoma acinar
Otro/Variantes.....
2. Gleason (primario + secundario)=.....
3. Cuantificación tumoral:
+ Nº de cilindros positivos:.....
+ Nº de cilindros remitidos:.....
+ % cilindros afectados, Gleason (especificar si es distinto en dsistintos cilindros) y longitud lineal:.....
4. Infiltración:
+ Perineural: si/no
+ Vesícula seminal (si identificada): si/no
+ Tejido adiposo (si presente): si/no
5. Angioinvasión: si/no
6. Otros hallazgos histopatológicos:.....

ANEXO II: Espécimen: PROSTATECTOMIA RADICAL:

Diagnóstico:

1. 1.-Tipo histológico: Adenocarcinoma acinar
Otro/Variantes.....
2. Gleason (primario + secundario)=.....
Terciario (si hay):.....
3. Cuantificación tumoral:
+ % próstata y descripción zonas afectadas:.....
+ Tamaño nódulo dominante:.....
4. Extensión extraprostática: si /no
Si presente: localización y extensión:.....
Focal / No-focal
5. Margen quirúrgico afectado: si/no
+ Si presente: localización, extensión, Gleason en margen.....
+ Margen positivo: extraprostático vs incisión intraprostática
6. Infiltración:
+ Perineural: si/no
+ Angioinvasión: si/no
+ Vesícula seminal (si identificada): si/no Izda/derecha
+ Cuello vesical: si/no
7. Ganglios linfáticos:
Nº identificado:.....
Nº metástasicos:.....
(Describir lateralidad y tamaño máximo:.....)
8. Estadio patológico TNM 7th: pT..N..

CAPÍTULO 7.

VII. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS Y MOLECULARES EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA: MARCADORES RECOMENDADOS Y ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS. MARCADORES PRONÓSTICOS.

Inés de Torres

Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona

En el abordaje y empleo de las técnicas de inmunohistoquímica y moleculares en la biopsia diagnóstica del cáncer de próstata se plantean las siguientes cuestiones:

1. *¿Cuándo usar técnicas de inmunohistoquímica?*
2. *¿Qué marcadores y que criterios utilizar?*
3. *¿Cómo evaluar las técnicas de inmunohistoquímica?*
4. *¿Cómo interpretar el inmunoperfil obtenido?*

VII.1. MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN PEQUEÑO FOCO GLANDULAR ATÍPICO SOSPECHOSO DE ADENOCARCINOMA

En la última década la implementación de la biopsias prostática extensiva con amplio muestreo (12 a 18 cores) en el screening del cáncer de próstata, ha supuesto con mayor frecuencia el identificar en alguno de los cilindros un pequeño foco glandular atípico sospechoso, no concluyente morfológicamente con la tinción usual de H&E.

En estas circunstancias es importante poder demostrar en las glándulas sospechosas la ausencia de células basales que se puede hacer mediante inmunohistoquímica para citoqueratinas de alto peso molecular como la **CK basal 34βE12 (CK903)**, o citoqueratina 5/6 (ambas con expresión citoplasmática) o bien con **p63** (expresión nuclear). La ausencia de expresión para estos marcadores apoya el diagnóstico de adenocarcinoma pero no es suficiente. Por otra parte es bien conocido que lesiones de adenosis, atrofia parcial o la neoplasia intrapitelial de alto grado pueden presentar inmunoexpresión positiva discontinua focal o ausencia de expresión para marcadores de células basales. Se ha descrito recientemente expresión difusa aberrante para p63 en adenocarcinoma de próstata (Osunkoyoma, 2008; Gianico 2013).

El uso de doble inmunotinción con CK basal 34βE12 y p63 aumenta la sensibilidad según algunos estudios disminuyendo la variabilidad de marcaje (Brimo, 2012). En definitiva un marcaje positivo para células basales es más consistente con lesión benigna que un marcaje negativo con malignidad.

Se han sugerido otros marcadores para células basales como D2-40, CD109, BCL-2, sin embargo su experiencia es limitada y no se recomiendan en la práctica clínica.

A Methylacyl-CoA-Racemasa (AMACR/P504s) está sobre-expresada en cáncer prostático con una sensibilidad que varía entre 82% y 100% (Jiang, 2002, Beach, 2002, Magi-Galluzzi, 2003; Zhou, 2003). La expresión en adenocarcinoma deberá presentar por lo general un marcaje intenso (observado ya a un aumento de 100X) y será citoplasmática con refuerzo apical circunferencial. Hay que tener en cuenta que ocasionalmente se puede observar marcaje leve en tejido normal (0-4%) y moderado en focos de PIN de alto grado (50-65%). Sin embargo hay algunas limitaciones en el uso de AMACR en la biopsia prostática: 1) AMACR puede ser heterogénea y leve en variantes de adenocarcinoma como la pseudo-hiperplásica, atrófica o de glándulas espumosas y en carcinomas previamente tratados con hormonoterapia (Beach, 2002; Zhou 2003); 2) AMACR se puede expresar moderadamente en lesiones benignas como la adenosis (15%) o el adenoma nefrogénico (50%) 3) AMACR se expresa frecuentemente en el PIN de alto grado (65%).

Se recomienda en biopsia prostática no utilizar únicamente AMACR para descartar adenocarcinoma sino en combinación con un marcador de células basales. La utilización de triple coctel con tres anticuerpos (PIN4) y doble tinción de cromógeno, p63 y CK basal (cromógeno marrón) y AMACR (cro-

mógeno rojo) se está utilizando cada vez más en el diagnóstico de pequeño foco atípico sospechoso. (Jiang, 2005).

Un último marcador propuesto recientemente de posible utilidad para diagnóstico de cáncer limitado en biopsia prostática es el **ERG (anticuerpo monoclonal del gen de fusión TMPRSS2-ERG)** altamente específico para el cáncer prostático que solo está presente sin embargo en el 40-50% de los adenocarcinoma, expresándose también en el 16-20% del PIN de alto grado adyacente al tumor. La ventaja de ERG respecto al AMACR es la ausencia de expresión en hiperplasia post-atrónica, adenosis, atrofia parcial y por lo general en glándulas benignas (He 2011, Green 2013, Cheng 2013). Sin embargo a diferencia del AMACR el ERG tiene una baja sensibilidad (40-50%) y posibilidad de falsos negativos en el diagnóstico de la biopsia. Se ha propuesto su utilización en aquellos casos de foco glandular atípico en los que el diagnóstico no sea concluyente con los marcadores de células basales y AMACR pero su utilización en la práctica clínica para diagnóstico es todavía objeto de investigación.

¿Cómo se deben evaluar las técnicas de inmunohistoquímica en el foco glandular atípico sospechoso de cáncer, en un cilindro prostático?

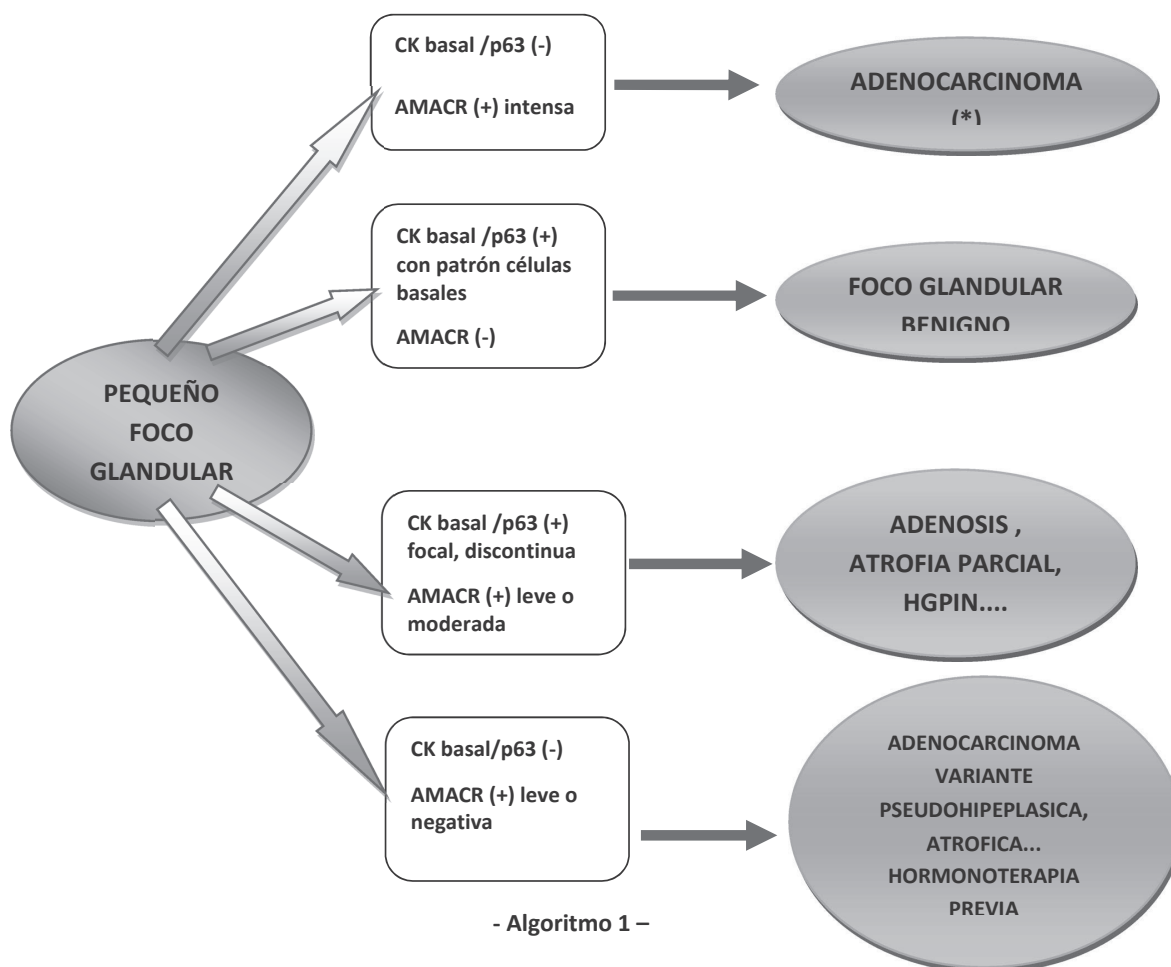
- Se debe analizar la inmunoexpresión no solo en el foco sospechoso sino **en todo el cilindro** ya que puede haber fragmentación de las glándulas (que se identifica en la arquitectura glandular del cilindro completo) o bien se pueden observar otras áreas claramente neoplásicas que no estaban representadas en el corte inicial de tinción H&E y si en el corte empleado para inmunohistoquímica.
- Se debe evaluar el marcaje inmunohistoquímico del foco atípico como un **conjunto glandular** y no la inmunoexpresión de las glándulas por separado, ya que puede haber por ejemplo expresión focal para queratinas en algunas glándulas que apoyen junto con la negatividad de AMACR la benignidad del foco glandular.

Las recomendaciones de la ISUP (Epstein, 2014) en la aplicación de inmunohistoquímica para foco glandular atípico sospechoso de cáncer son:

1. Utilizar marcadores de células basales (CK de alto peso molecular o p63), siempre en combinación con AMACR.
2. Si la morfología del foco glandular es concluyente de adenocarcinoma, no está justificado el uso de inmunohistoquímica con CK de alto peso molecular /p63 ni AMACR.
3. En el caso de foco glandular benigno morfológicamente concluyente tampoco está justificado utilizar inmunohistoquímica.

VII.2.MARCADORES INMUNOHISTOQUIMICOS PARA DIFERENCIAR CARCINOMA INTRADUCTAL DEL PIN DE ALTO GRADO CON PATRON CRIBIFORME.

El carcinoma intraductal representa, en la mayoría de casos, la cancerización de ductos prostáticos benignos por cáncer prostático de alto grado, de ahí la importancia en la práctica clínica de distinguirlo de la lesión preneoplásica o PIN de alto grado. Si bien los criterios morfológicos son diferentes en ambas lesiones, no son útiles marcadores de células basales ya que en ambos casos expresan CK basal 34βE12 o p63, y en ambas se observa expresión para AMACR. Se ha demostrado inmunoexpresión para ERG en un 58% de carcinomas intraductales respecto a un 13% de PIN de alto grado cribiforme (Han, 2010). Se ha detectado en el 84% de carcinomas intraductales prostáticos la pérdida de expresión citoplasmática de PTEN en comparación con el 0% de los casos de PIN de alto grado analizados (Lotlan, 2012) por lo que sería un posible marcador para diferenciar ambas lesiones. La posible utilización de ERG o PTEN para diferenciar en una biopsia prostática PIN de alto grado con patrón cribiforme de un carcinoma intraductal prostático está todavía en vías de validación por lo que se recomienda hacer el diagnóstico diferencial en base a la morfología distintiva entre ambas entidades.



(*) El diagnóstico de cáncer de próstata en foco glandular sospechoso debe estar siempre basado en criterios morfológicos correlacionados con la inmunohistoquímica.

VII.3. MARCADORES INMUNOHISTOQUÍMICOS EN EL DIAGNÓSTIC DIFERENCIAL DEL ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO CON OTROS TUMORES

VII.3.1. ADENOCARCINOMA DE PROSTATA POCO DIFERENCIADO VERSUS CARCINOMA UROTELIAL DE ALTO GRADO.

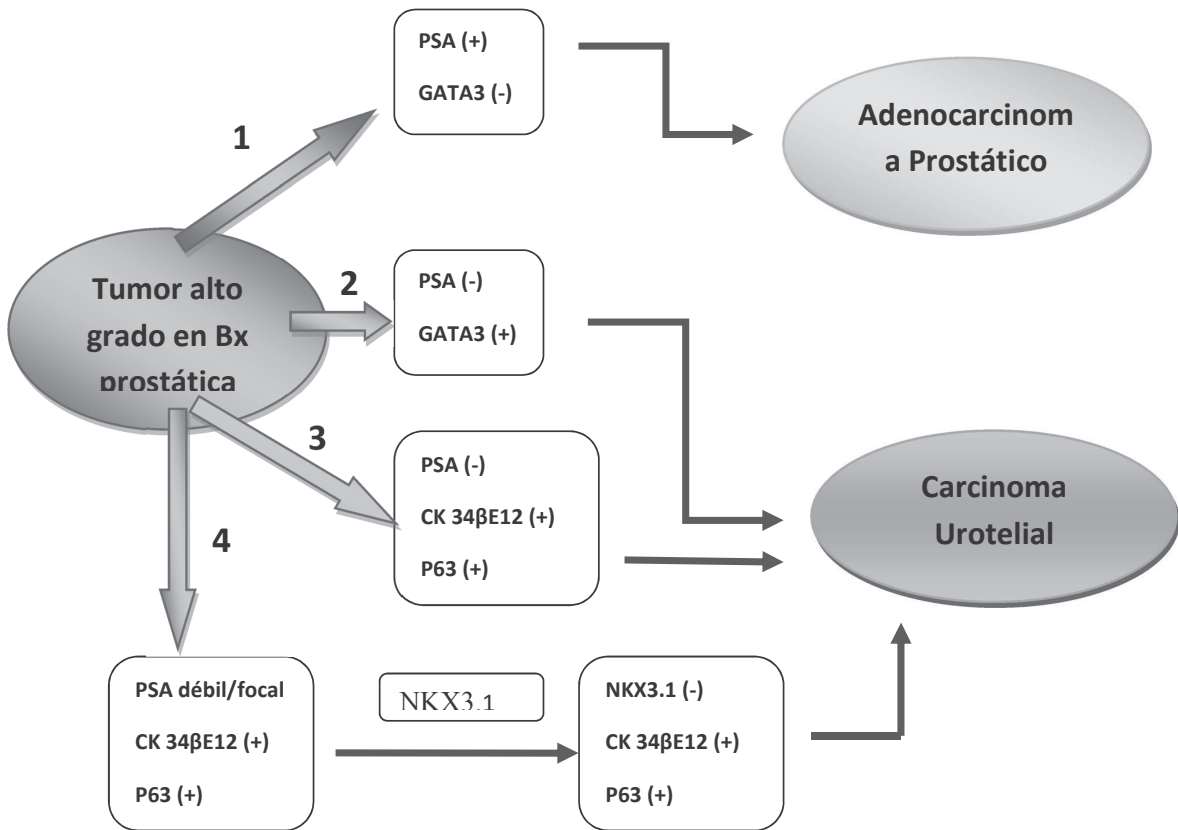
En biopsia prostática puede ser difícil la distinción entre adenocarcinoma de alto grado primario prostático y carcinoma urotelial de alto grado. La inmunohistoquímica puede ser de utilidad pero hay que tener en cuenta que: 1) la expresión para PSA que es negativa en carcinoma urotelial, también puede ser negativa por su expresión heterogénea, en el adenocarcinoma de próstata poco diferenciado. 2) la expresión para citoqueratinas CK7 y CK20 característica de carcinoma urotelial también se observa en adenocarcinoma de próstata de alto grado. 3) Los receptores de andrógenos (AR) positivos en la mayoría de adenocarcinomas de próstata también se han demostrado en algunos carcinomas uroteliales. En definitiva estos marcadores mencionados tienen un bajo poder discriminatorio.

La citoqueratina basal 34 β E12 es positiva en más del 90% de carcinomas uroteliales y solo se ha observado expresión focal en un 8% de adenocarcinomas de próstata (Chuang 2007). p63 sin embargo tiene mayor especificidad pero menor sensibilidad para carcinoma urotelial que la CK basal. La trombomodulina cuya expresión membranosa se identifica en el 69% al 100% de carcinomas uroteliales (Ordoñez, 1998) está solo muy ocasionalmente expresada en adenocarcinoma de próstata (Chuang, 2007). NKX3.1 que se expresa en epitelio secretor prostático de glándulas prostáticas benignas y malignas ha demostrado exce-

lente sensibilidad (98.6%) y especificidad (99.7%) en discriminar entre cáncer prostático y cáncer urotelial (Gurel, 2010).

GATA 3 es un factor de transcripción tipo zinc finger que juega un papel regulador en el desarrollo de linfocitos T y procesos relacionados con el endotelio. Recientemente se ha demostrado en largas series su utilidad como marcador de carcinoma urotelial en el 86% y 92% (Liu 2012; Miettinen 2014) con una inmunotinción nuclear intensa y difusa en > 50% de células tumorales.

La **recomendación de la ISUP** para diferenciar el adenocarcinoma prostático y el carcinoma urotelial es utilizar como primera opción el marcaje con PSA y GATA 3. Así si el tumor expresa intensamente PSA y es negativo para GATA 3 será concluyente de adenocarcinoma prostático. Si por el contrario no expresa PSA y presenta inmunotinción moderada a intensa para GATA 3 será compatible con carcinoma urotelial. Si no se dispone de GATA 3 se puede usar CK basal y p63 conjuntamente con PSA para descartar un carcinoma urotelial primario. Si el tumor no expresa PSA pero expresa p63 y CK basal de forma intensa y difusa, será compatible con carcinoma urotelial. En caso de expresión focal para células basales se recomienda utilizar otros marcadores prostáticos como NKX3.1 o P501S (Algoritmo 2)



-Algoritmo 2

VII.3.2. CARCINOMA PROSTATICO DE CELULAS PEQUEÑAS VERSUS ADENOCARCINOMA PROSTATICO DE ALTO GRADO.

Es importante en biopsia prostática hacer la distinción entre carcinoma neuroendocrino de células pequeñas/intermedias y adenocarcinoma escasamente diferenciado ya que el tratamiento es quimioterapia y radioterapia en el primer caso, igual que en otra localización, en tanto que el abordaje terapéutico del adenocarcinoma prostático está basado en la hormonoterapia. El carcinoma neuroendocrino de células pequeñas prostático expresa marcadores neuroendocrinos, Sinaptofisina, Cromogranina A y CD56, en casi el 90% de los casos (Yao 2006; Wang 2008) y solo en el 17% - 25% muestra expresión focal para marcadores prostáticos (PSA, P501S). Ki67 muestra un porcentaje bajo (10%) en el adenocarcinoma respecto al carcino-

ma neuroendocrino de células pequeñas (83%). Se identifica expresión para TTF1 en >50% de carcinomas de células pequeñas prostáticos por lo que no es un buen marcador de metástasis de origen pulmonar. Se recomienda hacer el diagnóstico de carcinoma de células pequeñas prostático en base a la morfología y utilizando dos marcadores neuroendocrinos (p. ej. Sinaptofisina y CD56) junto a Ki67.

VII.3.3. PROSTATITIS CRÓNICA GRANULOMATOSA / XANTOMA VERSUS ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO DE ALTO GRADO.

En un 4% de los casos la prostatitis crónica granulomatosa inespecífica o un xantoma prostático pueden simular un carcinoma de próstata de alto grado por presentar abundantes histiocitos epitelioides con prominente nucléolo y citoplasmas granulares (Chuang, 2007). En estos casos es recomendable utilizar dos marcadores para su distinción: CD68 y citoqueratinas AE1/AE3 o Cam 5.2.

VII.3.4. MARCADORES PRONOSTICOS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA

Se han propuesto en la última década varios marcadores predictivos: pérdida de expresión de PTEN, aumento de Ki67, pérdida de expresión de NKX3.1, expresión de ERG, expresión de c-Myc, p53 (Stapleton 1998; Gurel 2008; Sarker 2009; Lotan 2011), pero hasta el momento ninguno de estos marcadores han podido ser validados en estudios prospectivos. En la actualidad no existen marcadores inmunohistoquímicos ni moleculares que se recomienden en la práctica asistencial del cáncer de próstata.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beach R, Gown AM, De Peralta-Venturina MN, et al. P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(12):1588-96.
2. Braun M, Scheble VJ, Menon R, et al. Relevance of cohort design for studying the frequency of the ERG rearrangement in prostate cancer. *Histopathol* 2011; 58(7):1028-36.
3. Brimo F, Epstein JI. Immunohistochemical pitfalls in prostate pathology. *Hum Pathol*. 2012 Mar;43(3):313-24.
4. Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, et al Immunohistochemical differentiation of high- grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1246–1255.
5. Chuang AY, Epstein JI. Xanthoma of the prostate: a mimicker of high-grade prostate adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2007;31:1225–1230.
6. Demichelis F, Fall K, Perner S, et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal p prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene* 2007; 26(31):4596-9.
7. Epstein JI, Egevad L., Humphrey PA., Montironi R., and Members of the ISUP . Best Practices Recommendations in the Application of Immunohistochemistry in the Prostate Report. *Am J Surg Pathol* 2014;38:e6–e19
8. Fine SW, Gopalan A, Leversha MA, et al. TMPRSS2-ERG gene fusion is associated with low Gleason scores and not with high-grade morphological features. *Mod Pathol* 2010; 23(10):1325-33.
9. Guo CC, Dancer JY, Wang Y, et al. TMPRSS2-ERG gene fusion in small cell carcinoma of the prostate. *Hum Pathol* 2011; 42(1):11-7.

10. Gurel B, Ali TZ, Montgomery EA, et al. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathology* 2010; 34(8):1097-105.
11. Gurel B, Iwata T, Koh CM, et al. Molecular alterations in prostate cancer as diagnostic, prognostic, and therapeutic targets. *Adv Anat Pathol.* 2008;15:319–331.
12. Gurel B, Iwata T, Koh CM, et al. Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Mod Pathol.* 2008;21:1156–1167.
13. Han B, Suleman K, Wang L, Siddiqui J, Sercia L, Magi-Galluzzi C, Palanisamy N, Chinnaiyan AM, Zhou M, Shah RB. ETS gene aberrations in atypical cribriform lesions of the prostate: Implications for the distinction between intraductal carcinoma of the prostate and cribriform high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2010 Apr;34(4):478-85.
14. Kuczyk MA, Serth J, Bokemeyer C, et al. The prognostic value of p53 for long-term and recurrence-free survival following radical prostatectomy. *Eur J Cancer.* 1998;34:679–686.
15. Lapointe J, Li C, Giacomini CP, et al. Genomic profiling reveals alternative genetic pathways of prostate tumorigenesis. *Cancer Res* 2007; 67(18):8504-10.
16. Liu H, Shi J, Wilkerson ML, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2012;138:57–64
17. Lotan TL, Gumuskaya B, Rahimi H, Hicks JL, Iwata T, Robinson BD, Epstein JI, De Marzo AM. Cytoplasmic PTEN protein loss distinguishes intraductal carcinoma of the prostate from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol.* 2013 Apr;26(4):587-603.
18. Gladell P, Paner GP, Luthringer DJ, Amin MB. Best Practice in Diagnostic Immunohisto-chemistry-Prostate Carcinoma and Its Mimics in Needle Core Biopsies. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:1388–1396.
19. Lotan TL, Gupta NS, Wang W, et al. ERG gene rearrangements are common in prostatic small cell carcinomas. *Mod Pathol* 2011; 24(6):820-8.
20. Lotan TL, Gurel B, Sutcliffe S, et al. PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2011;17:6563–6573.
21. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol.* 2014;38:13–22.
22. Mosquera JM, Perner S, Demichelis F, et al. Morphological features of TMPRSS2-ERG gene fusion prostate cancer. *J Pathol* 2007; 212(1):91-101.
23. Sarker D, Reid AH, Yap TA, et al. Targeting the PI3K/AKT pathway for the treatment of prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15:4799–4805
24. Scheble VJ, Braun M, Wilbertz T, et al. ERG rearrangemen in small cell prostatic and lung cancer. *Histopathol* 2010; 56(7):937-43.

25. Shah RB. Clinical Applications of Novel ERG Immunohistochemistry in Prostate Cancer Diagnosis and Management. *Adv Anat Pathol* 2013;20:117–124
26. Stapleton AM, Zbell P, Kattan MW, et al. Assessment of the biologic markers p53, Ki-67, and apoptotic index as predictive indicators of prostate carcinoma recurrence after surgery. *Cancer*. 1998;82:168–175.
27. Wang W, Epstein JI. Small cell carcinoma of the prostate. A morphologic and immunohistochemical study of 95 cases. *Am J Surg Pathol*. 2008;32:65–71.
28. Williamson SR, Zhang S, Yao JL, et al. ERG-TMPRSS2 rearrangement is shared by concurrent prostatic adenocarcinoma and prostatic small cell carcinoma and absent in small cell carcinoma of the urinary bladder: evidence supporting monoclonal origin. *Mod Pathol* 2011;24(8): 1120-7.
29. Yao JL, Madeb R, Bourne P, et al. Small cell carcinoma of the prostate: an immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:705–712.
30. Zhou M, Jiang Z, Epstein JI. Expression and diagnostic utility of alpha-methylacyl-CoA- racemase (P504S) in foamy gland and pseudohyperplastic prostate cancer. *Am J Surg Pathol* 2003

CAPITULO 8

VIII. RECOMENDACIONES ADICIONALES Y PREGUNTAS FRECUENTES DEL PATÓLOGO EN EL DIAGNOSTICO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

M^a del Pilar Gallel⁽¹⁾, M^o Isabel Hierro⁽²⁾, Julian Sanz⁽³⁾, Inés de Torres⁽⁴⁾

(1) Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida

(2) Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga

(3) Hospital Clínico San Carlos Madrid

(4) Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona

VIII.1. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO MACROSCÓPICO Y TALLADO DE LAS MUESTRAS PROSTÁTICAS

¿Es necesario medir los cilindros de próstata con precisión o basta una mediada aproximada?

Si es posible hacer una mediación precisa. Será más fácil si en cada recipiente hay 1 o 2 cilindros. En el caso de envío de numerosos cilindros y fragmentados en un mismo recipiente ha de ser los más representativa posible teniendo en cuenta que no se deshidraten.

¿Se pone el número de cilindros que dice el informe de solicitud o el número de cilindros observado y los fragmentos?

El patólogo tiene la responsabilidad de dar fe del material recibido y estudiado. Se recomienda describir el material recibido ya que puede haber casos de discordancia.

¿Cuántos casetes hay que poner cuando la biopsia por RTU de próstata es muy abundante (>50gr)?

Hasta un máximo de 8-9 casetes en la primera inclusión. Si se ha observado tumor T1b no es necesario incluir más fragmentos. Si el paciente es menor de 65 años se recomienda incluir todo el material.

¿Hay que describir la pieza de prostatectomía radical al corte o no es necesario?

Deben referirse todas las alteraciones destacables en la superficie de sección. Debe valorarse todas las áreas amarillentas, más densas o induradas(localización y medidas)

¿Hay que incluir toda la próstata cuando la pieza de prostatectomía radical presenta una gran hiperplasia nodular?

La mayoría de guías europeas recomiendan la inclusión total de la glándula.

Es posible la inclusión parcial. Hay una gran variedad de métodos de este tipo de inclusión. Se recomienda como óptimo el método que incluye completamente la región posterior y una sección de la región anterior de los lados izquierdo y derecho de la glándula. Si alguna de estas dos secciones contiene tumor considerable han de reincluirse secciones de toda la cara anterior. Este método detecta todos los tumores con Gleason ≥ 7 , el 100% de los bordes positivos y el 96% de la invasión extra prostática.

Cualquiera de los métodos parciales debe tener en cuenta que han de informar sobre del score de Gleason, el estado de los márgenes de resección y la invasión extraprostática. En el informe debe constar el método utilizado.

¿Hay que medir las vesículas seminales y los conductos deferentes e incluirlo en el informe o no?

En el manejo y la descripción macroscópica de las vesículas seminales de la reunión de consenso ISUP2009. No se hace referencia. Es posible que sea por la variabilidad de los especímenes.

¿Hay que incluir las vesículas seminales completamente?

El estudio de las vesículas seminales es importado en el pronóstico de los pacientes tras la prostatectomía radical y puede guiar el tratamiento apropiado mediante el uso de modelos predictivos. Sin embargo hay una gran variabilidad en su manejo que complica extraordinariamente la comparación de resultados entre las distintas instituciones.

En la conferencia de consenso ISUP2009 no hubo acuerdo entre los participantes. El método de disección puede ser transversal, longitudinal o mixto. Tampoco hubo acuerdo si la inclusión debe ser completa o parcial.

Hay acuerdo general en la inclusión obligatoria de la porción de la vesícula seminal en la zona de unión a la glándula prostática para asegurar una posible invasión seminal por contigüidad. Debería incluirse un bloque adicional de cualquier lesión sospechosa macroscópicamente y sería opcional incluir otras áreas. No se recomienda la inclusión total.

¿Hay que incluir el extremo distal de los conductos deferentes?

No se recomienda.

VIII.2. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO E INFORME DE LA BIOPSIA PROSTÁTICA CON CÁNCER DE PRÓSTATA

Si en una biopsia prostática casi todo el tumor está constituido por un tipo de patrón Gleason y solo un mínimo componente es de un patrón distinto ¿cómo se calcula e informa el Score Gleason (SG) ?

En general en las biopsias con aguja se suman "el patrón predominante y el peor" para obtener el Score Gleason (SG) (a diferencia de la pieza quirúrgica donde se suman los dos predominantes, con comentario añadido si existe un componente terciario de mayor grado). En este caso que se plantea tendríamos dos escenarios posibles:

- **Si este componente mínimo es un patrón de alto grado, deberá ser incluido en el SG.** Cualquier cantidad en la biopsia con aguja de patrón de alto grado (para Epstein "con tal de que se identifique a bajo-medio aumento") se incluirá en el SG.

Ej : > 95% patrón 3 y < 5% patrón 4: score Gleason $3+4=7$

- Si estamos en el marco de un cáncer casi todo de patrón de alto grado y solo un **mínimo componente de patrón menor** (que en b. cilíndricas casi siempre será el patrón 3, porque el patrón 1 y, salvo excepcionales ocasiones, el patrón 2 ya no se admiten en estas muestras por la imposibilidad de valorar en ellas la circunscrición que conllevan estos patrones), uno debe ignorar los patrones de menor grado que ocupen < 5%.

Ej : > 95% patrón 4 y < 5% patrón 3:

Previo a ISUP 2005: $4 + 3 = 7$

Post-Consenso ISUP 2005: $4 + 4 = 8$

Porque probablemente se comporte en la PR y en la clínica más como $SG=8$ que $SG=7$.

Cuando se reciben múltiples cilindros juntos en un mismo recipiente y tienen distintos SG, cómo se debe calcular e informar el SG?

La situación de mayor importancia se produce cuando en 1 o más cilindros el cáncer es de alto grado puro (por ej. SG 4 + 4 = 8) y otros núcleos tienen patrón 3 (SG 3 + 3 = 6, 3 + 4 = 7 ó 4 + 3 = 7). Que dar ¿la puntuación más alta o la media global como SG?

Ej.: score Gleason 4 + 4 = 8, en 1 o más cilindros, con el patrón 3 en el resto. Lo más probable es que tenga un estadio superior y SG de más alto grado en la PR, comparable a puro GS 4 + 4 = 8.

Varios estudios muestran que el cilindro con mayor SG se correlaciona mejor con el grado y estadio de la prostatectomía radical en comparación con el SG más común o global. Si damos el SG global por imposibilidad de especificar el SG por cilindros, deberíamos añadir información adicional del cilindro con peor SG, que es el que suelen usar los urólogos para el cálculo del riesgo en los nomogramas (y siempre que la fragmentación de los mismos no lo impida, ya que si están fragmentados esto ya no lo podremos saber con certeza).

¿Cómo se mide la extensión del cáncer de próstata en la biopsia cilíndrica cuando se distribuye en focos discontinuos separados por tejido prostático benigno?

No hay consenso sobre el mejor método para medir ni de cómo medir cuando hay múltiples focos en un cilindro separados por estroma prostático benigno. Lo que si se recomienda es que los miembros cada equipo multidisciplinar de uro-onco-patología de una institución se ponga de acuerdo y conozcan la metodología usada.

Muchos patólogos (50% de los europeos, muchos de nuestros referentes, nacionales como Algaba e internacionales como Epstein), consideran los focos discontinuos de cáncer como si fuera 1 solo foco ininterrumpido, siendo la razón para ello el que estos focos discontinuos probablemente son el mismo foco ó área de cáncer que entra y sale del plano de sección. La medición del cáncer será pues desde la zona más externa del extremo donde empieza el carcinoma a la zona más externa del extremo donde termina en el cilindro, y a partir de ahí calculamos el % de afectación por cáncer de la biopsia.

Otros miden o estiman cada foco individualmente (sustrayendo el tejido benigno entre focos) y en el sumatorio de estas mediciones se considera la longitud y / o el % de afectación del cilindro.

Un tercer grupo adopta una posición intermedia: lo considera un único foco ininterrumpido siempre que no haya una separación entre ellos > de 3 o 5 mm, en cuyo caso lo miden como el segundo grupo (lo cual parece tener lógica cuando uno se encuentra dos mínimos focos en cada uno de los extremos de un cilindro y "duele" decir afectación del 95-100%, pero esto pasa raramente y siempre se puede comentar).

Tampoco está consensuada la forma de medición ó cuantificación. Hacerlo con un micrómetro ocular consume mucho tiempo, y los datos sobre si este método es superior a otros más simples son contradictorios. Lo más generalizado es calcular el % "a ojo".

Algunos autores recomiendan usar el micrómetro ocular especialmente para los casos que son posibles candidatos a vigilancia activa, porque los límites de la medición condiciona el tratar o no (y son como máximo dos los cilindros a medir). En nuestro centro se mide de esta forma en aquellos casos potenciales de vigilancia activa donde el límite de > o < de 50% de afectación es dudoso y en el resto se calcula de forma semicuantitativa o aproximada dividiendo el nº de campos que ocupa el tumor, por el nº de campos que ocupa el cilindro (usando el aumento que se adapte mejor a cada caso).

En conclusión se recomienda que, como mínimo, se registre el número de cilindros positivos, (a menos que impida esta evaluación la fragmentación de los cilindros afectados), junto con al menos 1 otra medición más detallada, tal como el porcentaje de afectación en cada cilindro o la longitud en mm de cáncer.

VIII.3.PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO E INFORME DE LA PIEZA DE PROSTATECTOMÍA RADICAL.

¿Si se observa en la pieza de prostatectomía solo un pequeño foco de patrón 4 ó 5, debe incluirse en el score Gleason? ¿cómo se informa?

En la pieza de prostatectomía radical la gradación o score Gleason (SG) se compone de los dos patrones predominantes, siempre que el secundario sea > del 5% del volumen del tumor. Si es < 5% duplicamos el patrón primario.

Así, si el foco referido es un patrón secundario, se incorporará al SG si es > 5% y si es < 5% no se incorpora al SG, pero informamos de su presencia en un comentario.

Ej: Nódulo tumoral con >95% patrón Gleason 3 and <5% patrón 4,

Informamos: score Gleason 3+3=6 con un componente menor (3%) de patrón 4.

Si tenemos un patrón terciario de Gleason 4 o 5, en particular si excede del 5% del volumen del cáncer, será un indicador de pronóstico desfavorable para recidiva bioquímica (aunque mejor pronóstico si <5% vs. 5%-50%) → La presencia de un patrón terciario de alto grado (con mayor grado que los incluidos en el SG) y su proporción aproximada de volumen de cáncer deben informarse además del SG global, porque modifica el pronóstico, ejs:

3+3=6 con Terciario 4 pronóstico entre 3+3=6 & 3+4=7.

3+4=7 con Terciario 5 pronóstico entre 3+4=7 & 4+3=7.

4+3=7 con Terciario 5 pronóstico entre 4+3=7 & 4+4=8

4+4=8 con Terciario 5 pronóstico similar a score Gleason 9-10

¿Cómo informar en la pieza de prostatectomía el score Gleason si existen dos ó más áreas o nódulos diferenciados de patrones diferentes, se suman para un SG global?

Cada foco tumoral dominante debería clasificarse por separado. Por ejemplo: 2 nódulos tumorales, uno en z. periférica 3 + 4 = 7 y nódulo separado en z. de transición 2 + 2 = 4. → *Dar las dos puntuaciones y **no** gradar en conjunto* como SG 4 + 2 = 6.

Normalmente sólo los focos tumorales mayores son gradados. No es necesario que se informe pequeñas áreas de cáncer multifocal de grado inferior. **Excepción:** cuando hay un foco más pequeño de patrón de mayor grado → informar este score Gleason.

¿Qué estadio patológico T se debe dar en la invasión del cuello vesical?

La **invasión microscópica de pequeñas fibras de músculo** liso no es equiparable a la invasión de la pared muscular de la vejiga, debido a que no conlleva significado pronóstico independiente y se debe registrar como **extensión extraprostática (pT3a)**.

Un margen positivo del cuello vesical debe ser informado como una extensión extra-prostática (pT3a) con margen positivo, y no como enfermedad pT4. **Estadio pT4 sólo se puede asignar cuando el tumor invade la pared muscular de la vejiga claramente.**

¿Cuándo se debe considerar un margen positivo? ¿Qué de cerca han de estar las células tumorales del borde quirúrgico para ello?

El margen es positivo si las células tumorales **están en contacto con la tinta** en la superficie de la muestra y es negativo si las células tumorales están cerca de la superficie tintada del margen, pero sin tocarla, o cuando están en superficie de tejido sin tinta (entendiendo que hemos debido pintar la superficie previamente). En los tejidos que tienen artefactos por aplastamiento, etc. (por lo general en el ápex), puede que no sea posible asignar un estado del margen quirúrgico.

¿Debe informarse la invasión linfovascular en las piezas de prostatectomía radical por cáncer de próstata?

Si, tras la reunión de consenso ISUP 2009 se recomienda que este parámetro se incluya en el informe anatomopatológico (aunque no está totalmente aclarada su utilidad pronóstica), siendo definida como la presencia inequívoca de células tumorales dentro de espacios revestidos por endotelio sin paredes musculares subyacentes o como la presencia de émbolos tumorales en pequeños vasos intraprostáticos. Si existe duda la mayoría de autores la considera negativa. Normalmente es evaluada con H-E, siendo el uso de IHQ opcional (con Ac contra CD 31 como marcador pan-endotelial, CD34 como marcador endotelial de vaso sanguíneo y D2-40/podoplanina como marcador de vaso linfático), siendo en general usada para casos dudosos (se debe tener especial cuidado para excluir artefactos por retracción o desplazamiento mecánico de las células tumorales con la hoja del bisturí, tumor dentro de conductos prostáticos

y tumor dentro de espacios perineurales). La mayoría de los estudios no diferencian entre canales linfáticos y vasculares debido a las dificultades para diferenciarlos con microscopia óptica de rutina y porque, a efectos prácticos, ambas implican que el tumor ha alcanzado el sistema circulatorio.

VIII.4. PREGUNTAS FRECUENTES EN EL ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA BIOPSIA PROSTÁTICA **¿Se deben reservar cortes en blanco para posible inmunohistoquímica en caso de que se requiera?**

Al detectar un pequeño foco glandular sospechoso en los cortes de H&E es posible que con los recortes para inmunohistoquímica el foco desaparezca. Algunos patólogos reservan secciones en blanco en intervalo entre los que se hacen para H&E para posible análisis posterior. Sin embargo estudios comparativos como los de Green y Epstein sobre biopsias prostáticas con pequeño foco sospechoso en las que utilizaron cortes de reserva para inmunotinción respecto a nuevos cortes para inmunotinción, demostraron que solo en el 2.8% la inmunohistoquímica en los cortes reserva permitían hacer el diagnóstico. Esta sería una razón para reservar cortes en blanco, sin embargo es una práctica no exenta de aumento en el coste/biopsia y aumento del espacio en los archivos de los servicios anatomopatológicos. En una reciente encuesta internacional de más de 90 patólogos genitourinarios, sólo el 48% reservaba secciones en blanco en sus instituciones. Esta práctica sigue siendo más frecuente en los patólogos norteamericanos que en patólogos de otros países (58% vs 29%).

El estudio de Hameed y Humphrey sobre 682 biopsias de próstata consecutivas de las que en 70 casos se practicó inmunohistoquímica tanto en cortes reserva como en recortes posteriores a este fin, demostró que la pérdida del foco se produjo en un 8% en los cortes reservados respecto a un 50% de los casos de los recortes. Además el 79% de los focos que se disiparon en los recortes fue de 1 mm o menor lo cual es un punto importante en la toma de decisión para vigilancia activa.

La mayoría de autores proponen reservar dos cortes en blanco a diferentes niveles: nivel 1, 3 y 5 cortes H&E y niveles 2 y 4 cortes reserva en blanco para inmunohistoquímica.

¿Que inmunohistoquímica utilizar para el diagnóstico de las grandes proliferaciones atípicas en la biopsia prostática?

Las glándulas atípicas del PIN de alto grado, el adenocarcinoma acinar con patrón 4 cribiforme y el carcinoma ductal pueden, en la biopsia prostática, tener una morfología similar. Si se tiene en cuenta que el 31% de los carcinomas ductales y el 30% de los adenocarcinomas con patrón cribiforme tienen células basales residuales y que el 27% de los carcinomas ductales o el 37% de los adenocarcinomas con patrón 4 cribiforme son negativos para P504s/AMACR, la inmunohistoquímica no es útil y puede inducir a errores diagnósticos. De ahí que la morfología con la H&E siga siendo la clave para el diagnóstico de estas entidades. No se recomienda por tanto el uso de la inmunohistoquímica para establecer su diagnóstico.

Ante una biopsia de próstata con cáncer previamente tratado ¿que marcadores inmunohistoquímicos utilizaremos para poder identificar el adenocarcinoma?

Los cambios morfológicos que introduce la hormonoterapia y/o radioterapia pueden dar lugar a infra-diagnosticar un adenocarcinoma residual o recidivante. La expresión de AMACR varía según el efecto del tratamiento y suele presentar pérdida de expresión de forma heterogénea. Se recomienda por ello utilizar marcadores basales (p63 o CK basal 34βE12) y citoqueratinas de amplio espectro (AE1/AE3) que además de expresarse en las glándulas neoplásicas alteradas por el tratamiento proporcionan información sobre la carga tumoral residual en la biopsia.

Ki67 por otra parte es un marcador opcional en estos casos ya que puede orientar en la viabilidad de los nidos tumorales, sin embargo no está validado todavía como marcador en la práctica asistencial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Algaba F, Alvarez-Argüelles H, Comdon E, Chivite A, Fernandez PL, Garcia F, Gonzalez-Peramato, Guarch R, Lopez-Beltran A, Matilla A, Perez Guillermo M, Picazo I, Serrano A, Soares Oliveira, I de Torres, I Trias,

- and Val –Bernal F. Recomendaciones para el correcto envío de las muestras. En Protocolos diagnósticos y pronósticos en uropatología.2001;pag 45.
2. Beach R, Gown AM, De Peralta-Venturina MN, et al. P504S immunohistochemical detection in 405 prostatic specimens including 376 18-gauge needle biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:1588–1596.
 3. Berney DM, Wheeler TM, Grignon DJ, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Montironi R, Delahunt B, Egevad L, Srigley JR and ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 4: seminal vesicles and lymph nodes. *Mod Pathol* 2011; 24:39-47.
 4. Burling MA, Carter HB, Schellhammer P, Cookson MS, Gomella LG, Troyer D, Wheeler TM, Schosberg, Penson DF and Taneja SS. Optimization of Initial Prostate Biopsy in Clinical Practice: Sampling, Labeling, and Specimen Processing. *J.Urol-* 2013 ; 186: 2039-2046
 5. Egevad L, Allsbrook WC Jr, Epstein JI. Current practice of diagnosis and reporting of prostate cancer on needle biopsy among genitourinary pathologists. *Hum Pathol.* 2006;37:292-297.
 6. Egevad L. Handling of radical prostatectomy specimens. *Histopathol* 2012; 60: 118-124. Epstein JI and Netto GJ. Chapter 1 in *Biopsy Interpretation of the Prostate (Biopsy Interpretation series)* Book, 2007. 4th ed.
 7. Green R, Epstein JI. Use of intervening unstained slides for immunohistochemical stains for high molecular weight cytokeratin on prostate needle biopsies. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:567-570.
 8. Hameed O, Humphrey PA. p63/AMACR antibody cocktail restaining of prostate needle biopsy tissues after transfer to charged slides: a viable approach in the diagnosis of small atypical foci that are lost on block sectioning. *Am J Clin Pathol.* 2005;124:708-715.
 9. Herawi M, Epstein JI. Immunohistochemical antibody cocktail staining p63/ HMWCK/ AMACR of ductal adenocarcinoma and Gleason pattern 4 cribriform and noncribriform acinar adenocarcinomas of the prostate. *Am J Surg Pathol.* 2007;31:889–894
 10. Kubier P, Miller RT. Tissue protection immunohistochemistry: a useful adjunct in the interpretation of prostate biopsy specimens and other selected cases in which immunostains are needed on minute lesions. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:194-198.
 11. Montironi R, Cheng L, Scarpelli M and Lopez-Beltran A. "Pathological" Reflection on European Urology: Extended, Saturation and Systematic Prostate Biopsy. *Eur Urol* 2008; 53:1111-1122.
 12. Petraki CD, Sfikas CP. Histopathological changes induced by therapies in the benign prostate and prostate adenocarcinoma. *Histol Histopathol* 2007; 22(1):107-18.
 13. Samaratunga H, Montironi R, True L, Epstein JI, Griffiths DF, Humphrey PA, van der Kwast T, Wheeler TM, Srigley JR, Delahunt B, Egevad and The ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol* 2011;24:6-15.
 14. Trpkov K, Thomson J, Kulaga A and Yilmaz A. How much tissue sampling is required when unsuspected minimal prostate carcinoma is identified on transurethral resection? *Arch Pathol Lab Med*, 2008; 132: 1313-6.

Protocolos de muestras de testículo

Pilar González-Peramato ⁽¹⁾, Patricia Antúnez ⁽²⁾, Margarita Gimeno ⁽³⁾

(1) Hospital Universitario La Paz, UAM, Madrid

(2) Hospital Universitario de Salamanca

(3) Hospital Universitario Infanta Leonor, Madrid.

I. RECOMENDACIONES DE ENVÍO DE LA MUESTRA.

La fijación de muestras de testículo que llegan a nuestros Servicios de Anatomía Patológica debe de ser distinta dependiendo la finalidad del estudio:

a) *Orquiectomía radical*. Lo más recomendable que recibamos la pieza en fresco sin incisiones, de este modo, se podrá congelar tejido normal y tumoral para el banco de tumores y posteriormente manipularla adecuadamente para su fijación durante 24 horas.

La adecuada fijación del tejido es crucial para la misión más importante del estudio patológico de los tumores testiculares, su adecuada tipificación. Las cubiertas testiculares impiden una fijación rápida del tejido. Por ello, si se va a demorar el envío al Servicio de Anatomía Patológica es recomendable que el urólogo realice cuidadosamente una incisión en la cápsula para permitir una adecuada fijación el tejido. Deberá hacerla abriendo la túnica vaginal y seccionando el borde lateral del testículo hacia el epidídimo.

b) *Las orquiectomías parciales y biopsias para diagnóstico/ despistaje de neoplasias germinales intratubulares (CIS)* se enviarán fijadas en formol, como de rutina, puesto que la mayoría de los métodos inmunohistoquímicos están basados en fijación en formol.

c) Diagnosticar *problemas de infertilidad*: se enviarán fijadas en *Bouin*, pues los detalles de la morfología nuclear estarán mejor definidos. Algunos autores proponen otros fijadores como *fluido de Davidson*.

Datos clínicos requeridos en la hoja de petición: además de los identificativos del paciente, aparecerán otros relevantes de la historia clínica, como lateralidad, tipo de muestra, datos analíticos (β -HCG, alfa fetoproteína que ayuden a la identificación de componentes no seminomatosos de un tumor), origen anatómico de los ganglios linfáticos, pruebas de imagen, tratamientos y diagnósticos (tumores) previos...y en general toda aquella información que nos resulte útil para el diagnóstico. Los datos demográficos y clínicos más significativos se incluirán en el informe anatomopatológico.

II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

ORQUIECTOMÍA

Orquiectomía radical.

El **manejo** de la pieza es el mismo independientemente de la lesión que les afecte. Las orquiectomías radicales engloban teste, epidídimo y una porción de cordón espermático, estructuras que deben identificarse para orientar la pieza. Se procederá a:

- Medir el testículo en 3 dimensiones
- Medir la longitud del cordón espermático. Después, algunos autores recomiendan que se separe la porción más distal del cordón espermático, considerado como el verdadero límite quirúrgico, poniéndolo en envase separado, para que no exista contaminación en la manipulación posterior de la muestra.
- Abrir la túnica vaginal por cara anterior, anotando la presencia de hidrocele o adherencias.
- Podemos utilizar el epidídimo como guía para orientarlo, pues con su morfología arqueada engloba al teste en su parte posterior y nos servirá también de apoyo para su **sección sagital bivalva**. Es importante hacer rápidamente esta sección bivalva del testículo para su adecuada fijación, en formol al menos durante 24 horas. Alternativamente puede fijarse una mitad de la muestra en formol y la otra mitad en líquido de Bouin. Cuando la pieza se endurece se realizarán cortes paralelos a la primera sección de aproximadamente 3-4 mm.
- Durante la disección seremos siempre conscientes de la localización del mediastino testicular por el que ductos, vasos y nervios entran y salen del testículo, dado que muchas neoplasias e infecciones se extienden hacia el testículo por esta zona.
- Es recomendable tomar fotografía de la pieza.

En la **descripción macroscópica** deberán constar los siguientes datos:

- Lateralidad del testículo
- Cómo se ha recibido la pieza (fresco/formol).
- Si se ha congelado muestra de tumor con o sin parénquima sano.
- Longitud del cordón espermático y dimensiones de la gónada (incluyendo tejidos paratesticulares).
- El estado normal o patológico de la vaginal y albugínea, con descripción de la existencia/no de:
 - Sangre, líquido o cualquier otro contenido en el espacio vaginal.
 - Solución de continuidad de alguna de ellas o algún tipo de adhesión.
 - Extensión tumoral a su través.
- El estado del parénquima testicular.
 - Si existe lesión se describirá en forma, tamaño, límites y coloración, detallando todo aquello que le aparta de la normalidad.
 - Si se trata de un tumor hay que describir:
 - Localización del tumor: (polos superior/inferior, medio)
 - Tamaño (3 dimensiones). El tamaño tumoral (>4cm) es un factor predictivo independiente de recidiva a 5 los años.
 - Aspecto del tumor: (multilobulado, con áreas o no de necrosis, hemorragia...), su consistencia (sólida/quística), coloración, y en general todos los detalles que nos ayuden a encauzar hacia el diagnóstico microscópico de los distintos tipos de tumores germinales que pudieran existir.
 - Multifocalidad, si está presente.
 - Relación con estructuras anatómicas próximas: túnica albugínea, mediastino testicular, epidídimo, cordón espermático.
 - Resto de parénquima: se hará referencia al volumen aproximado que supone la gónada normal y si ésta tiene áreas de cicatriz.

Selección de secciones (Figura 1).

Es importante ser generoso a la hora de incluir en bloques los focos heterogéneos de una tumoración, por la gran incidencia de tumores germinales mixtos. La identificación, incluso de una pequeña área, de un tipo tumoral diferente, o el porcentaje de alguno de ellos (carcinoma embrionario o coriocarcinoma) puede ser determinante para el manejo del paciente y el pronóstico. Se incluirán áreas hemorrágicas para buscar componentes trofoblásticos.

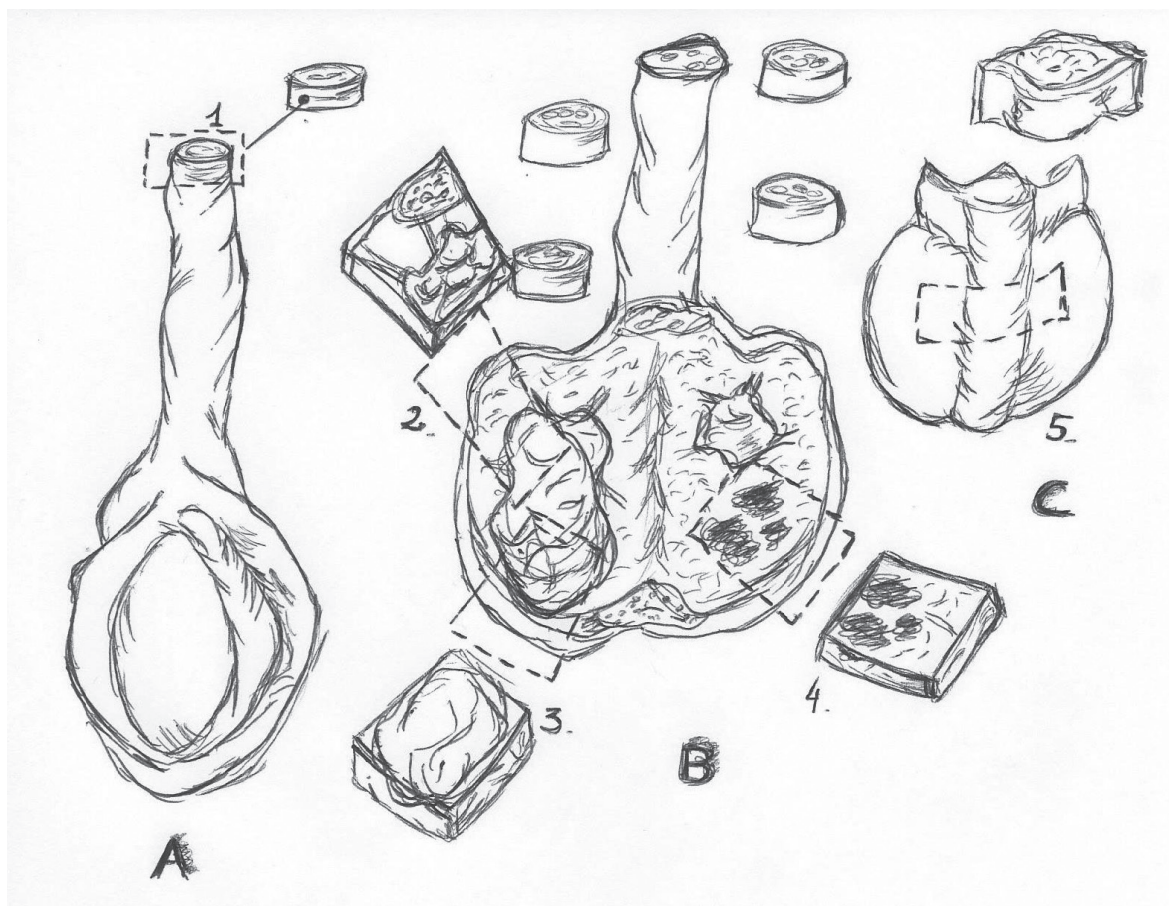


Fig. 1. Guía tallado de orquiectomías radicales por tumor según esquema de trabajo. (Modificado de William H et al, 2003):

- A. Toma de **bloque/s 1** del margen quirúrgico de cordón espermático. Se incluirá también un bloque de la base del cordón para determinar si hay invasión microscópica o más dependiendo del estudio macroscópico. Apertura por cara anterior de la túnica vaginal, que pone de manifiesto el testículo y el epidídimo.
- B. Tras abrirlo sagitalmente realizaremos toma de diversas secciones que incluyan:
- **Bloque/s 2.** Relación del tumor con testículo normal próximo y cortes de parénquima no tumoral (para determinar la presencia/ausencia de CIS, atrofia, calidad de la espermatogénesis y otros datos de disgenesia testicular).
 - **Bloque/s 3.** Cortes del tumor en su relación con albugínea (en su zona más sospechosa de infiltración).
 - **Bloque/s 4.** Se incluirán varios bloques del tumor, que sean representativos de las distintas zonas macroscópicas que configuran la neoplasia (un bloque por cada cm de diámetro del tumor, o más dependiendo de la heterogeneidad del tumor o un mínimo de 6 bloques). Se podrá añadir una mayor selección del tejido dependiendo del volumen tumoral y su relación o no con otras estructuras. Es recomendable muestrear ampliamente los seminomas para excluir áreas de tumor no seminomatoso que cambien el manejo del paciente (en seminomas grandes se recomienda al menos 10 bloques). La invasión vascular es más frecuente en la periferia del tumor (incluirla ampliamente).
 - **Bloque/s 5.** En la cara posterior, y realizando cortes de epidídimo podemos conocer su relación con el tumor y con rete testis y otras estructuras del mediastino testicular.

Orquiectomía parcial (en casos con focos tumorales pequeños, tumores bilaterales, quistes simples u orquiectomía previa).

- Se teñirán con tinta china los márgenes de resección quirúrgica.
- Se tomará nota de las medidas y características macroscópicas.

- Seleccionar las áreas anormales para su inclusión o se realizará inclusión completa si la muestra es de pequeño tamaño.
- Incluir el área de menor distancia entre el tumor y el borde pintado con tinta china.

Biopsia testicular por infertilidad o testículo contralateral para diagnóstico de CIS.

- La **descripción macroscópica** se limitará a reseñar: el tejido (color, textura), la medida en tres dimensiones, que generalmente no será mayor a 3 mm. Con frecuencia serán muestras bilaterales.
- Se incluirán en su totalidad.

Biopsia testicular intraoperatoria.

- Son pocas las ocasiones en las que se requiere estudio intraoperatorio testicular en la actualidad (testículo único, lesiones bilaterales, tumores pequeños) y puede ser realmente difícil de interpretar.
- El tejido se recibe en fresco. Se seleccionan distintas áreas macroscópicas (hemorrágicas, blanco-nacaradas...), recomendando realizar extensión citológica de cada una de ellas antes de su congelación tras descripción macroscópica y medición.
- Si la muestra es milimétrica se incluye en su totalidad.

LINFADENECTOMÍA RETROPERITONEAL

Linfadenectomías primarias.

- Actualmente se realizan en pocas ocasiones, pero si la orquiectomía asocia linfadenectomía radical se procederá y describirá como en otros órganos (medidas de todos los ganglios como es requerido para estadificación TMN, descripción de aspecto normal o tumoral).
- Se incluirán todas las áreas de apariencia tumoral con diferente aspecto macroscópico, la zona de tumor con menor distancia al borde de resección y todos los ganglios de apariencia normal.

Masas residuales tras quimioterapia.

- Se medirán todos los ganglios (requerido para estadificación TMN), se pintarán con tinta china los márgenes, ya que la escisión completa es determinante para el pronóstico.
- Se incluirán las áreas de tumor viable. Las áreas de necrosis pueden también mostrar la sombras de lo que fue el tumor y pueden ser útiles en su tipificación cuando ésta es extensa. No obstante debe informarse sólo las áreas de tumor viable.

III. ESTUDIO MICROSCÓPICO / DIAGNÓSTICO

DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA.

Es facultativa, aunque recomendable, sobre todo en los periodos de aprendizaje. Además ayuda a tener en cuenta todos los datos interesantes para el diagnóstico. En ella deberá constar:

- ***Piezas de orquiectomía.***
 - **Tipificación histológica de la lesión**, que debe hacerse en secciones de HE. En patologías no neoplásicas se mencionará expresamente la localización y estructuras involucradas. En patología neoplásica, la tipificación histológica precisa de los tumores testiculares es de capital importancia para el manejo clínico posterior, incluso más que la estadificación.
 - Se referirá si la masa es **única o múltiple**.
 - La **clasificación recomendada** para los tumores testiculares es la de la WHO 2004 (que se actualizará próximamente). En los tumores una buena aproximación inicial es valorar el *patrón arquitectural*. Los patrones más comunes incluyen: tumores sólidos compuestos de células de citoplasma pálido, tumores con patrón glandular o tubular, tumores con patrón microquístico, tumores oxifílicos y tumores de células fusocelulares.

- En caso de tumores de células germinales: presencia de uno (puro) o más tipos histológicos (mixto) con relación del **porcentaje** aproximado de cada uno de ellos. El **porcentaje de carcinoma embrionario** es un factor asociado a la tasa de recidiva en estadio I. En teratomas se especificará, si existe, **transformación somática** que consiste en sobrecrecimiento de carcinoma, sarcoma o PNET en el teratoma en al menos un campo de pequeño aumento (4X). El sobrecrecimiento de carcinoma se caracteriza por un crecimiento infiltrante.
- **Infiltración de la rete testis.** Es importante diferenciar la **infiltración pagetoide** del epitelio de la rete testis (generalmente por células de CIS) de la **infiltración del estroma del mediastino testicular**. Este último es un factor predictivo independiente de recidiva a los 5 años.
- **Infiltración directa del cordón espermático.** Cuidado: diferenciar la verdadera infiltración (por invasión directa o metástasis satélites) de la contaminación en la manipulación del tumor (más frecuente en seminoma por su friabilidad) y de la invasión vascular.
- **Infiltración linfovascular.** También cuidado para diferenciar la verdadera invasión vascular (tumor mezclado con elementos sanguíneos y adherido a la pared del vaso) de la contaminación por manipulación. Puede verse en la túnica albugínea, en el cordón espermático o en el parénquima testicular. En todos ellos sería pT2, incluso si hay afectación por tumor fuera de los vasos en cordón espermático. En tumores no-seminomatosos es el factor predictivo de recidiva más importante en estadio I, por ello debe informarse como positivo cuando el patólogo esté seguro de su presencia y negativo cuando sea equívoco. Es recomendable también **informar del tipo de tumor presente en la infiltración** pues tiene diferente valor para el manejo clínico si es seminoma o carcinoma embrionario.
- **Estadificación:** TMN 7ª Edición (Probablemente haya cambios próximamente).
- **Presencia de CIS:** Es importante constatar este dato. Su ausencia debe plantear el diagnóstico diferencial con otros tumores, especialmente seminoma espermatocítico y tumor de células de Sertoli. También ayuda en el DD entre quiste dermoide y teratoma maduro.
- **Otros datos:** Presencia de células de sincitiotrofoblasto, necrosis, grado de regresión espontánea del tumor, lesiones en el parénquima testicular peritumoral.
- **Otros tumores no germinales:** Datos sugestivos de malignidad en tumores de células de Leydig (infiltración de otras estructuras, infiltración linfovascular, gran tamaño (>5cm), atipia celular, necrosis y tasa mitótica alta) y tumores de células de Sertoli (> 5cm, sólido, invasión vascular, necrosis, pleomorfismo y mitosis >5/10 campos de gran aumento).

Diferenciar neoplasia vs hiperplasia en nódulos de células de Leydig en síndrome adrenogenital, disgenesias gonadales, mosaicismos.

- **Biopsia de testículo contralateral para diagnóstico de CIS.**

- Presencia / ausencia de CIS, especificando proporción de tubos afectados.
- Presencia / ausencia de microinfiltración.
- Presencia / ausencia de espermatogénesis, y calidad de la misma si presente.

- **Biopsia testicular por infertilidad.**

Es recomendable que este tipo de biopsia lleve una detallada descripción microscópica que incluya:

- Presencia / ausencia de albugínea y sus características.
- Tamaño (Diámetro tubular medio) y características de los tubos seminíferos. Si existen, porcentaje de tubos hialinizados o con solo Sertoli.
- Características de las células de Sertoli (adultas, disgenéticas, involutivas...).
- Presencia y calidad de la espermatogénesis, con recuento de espermatogonias, espermatocitos I, espermátides jóvenes y espermátides adultas por sección tubular transversal. Se detallarán, si existen alteraciones morfológicas en células germinales.
- Características del intersticio con especial mención de las células de Leydig, vasos intersticiales e infiltrados inflamatorios detallando su localización.

- Presencia o no de neoplasia intratubular germinal y porcentaje de tubos afectados (que también se hará constar además en estudios de pacientes con criptorquidia, disgenesia gonadal, desórdenes de diferenciación sexual o en tumor germinal contralateral o retroperitoneal).

- **Biopsia intraoperatoria.**

Cuando sea posible, siendo consciente de las grandes dificultades diagnósticas en el material en congelación, se comentará:

- Presencia / ausencia de lesión en la muestra.
- Si presencia, naturaleza de la lesión: reactivo vs neoplásico.
- Si neoplasia: seminoma vs tumor non-seminomatoso vs tumor no germinal.

DIAGNÓSTICO (datos que deben figurar en el informe):

- **Piezas de orquiectomía** por tumor

- Tipo/subtipos histológico de tumor
- Porcentaje de tipos tumorales en todos los tumores de células germinales mixtos
- Diámetro máximo del tumor
- Invasión del estroma de la rete testis
- Invasión directa de tejido blandos del hilio o cordón espermático (pT3)
- Invasión linfovascular (linfática y/o venosa. Y en tumores germinales mixtos el tipo de tumor que invade)
- Estado del margen quirúrgico en orquiectomías parciales y del cordón espermático en orquiectomías radicales
- Presencia / ausencia de CIS
- Estadío pT
- Otros datos: Infiltración pagetoide de la rete testis por CIS, infiltración del epidídimo, presencia y calidad de la espermatogénesis en el parénquima peritumoral y otras lesiones en el mismo (microlitiasis, nódulos de células de Sertoli)

- **Piezas de orquiectomía** por patología no neoplásica

- Diagnóstico de la lesión especificando la localización y estructuras involucradas.
- Biopsia testicular por infertilidad.
- Diagnóstico de la lesión especificando si es posible la naturaleza obstructiva o secretora de la infertilidad.
- Signos de progresividad (hialinización tubular).
- Número de espermatozoides esperado en seminograma según los resultados del estudio cuantitativo.
- Presencia / ausencia de CIS.

- **Linfadenectomías o resección de masas residuales.**

- Subtipo/ subtipos tumorales residuales (incluyendo porcentaje de cada uno)
- Viabilidad del tumor (porcentaje), presencia de necrosis, fibrosis.
- Extensión extraganglionar del tumor.
- Especificar si la resección ha sido completa o no.

IV. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS / MOLECULARES

ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS: No será necesaria en la mayoría de los casos, pues el diagnóstico del tipo y subtipo de tumor debe hacerse en base a los hallazgos morfológicos con HE. No obstante puede ser de utilidad en casos dudosos para subtipificar los tumores germinales mixtos.

En el DD de tumores germinales la ISUP recomienda un panel limitado a 4 marcadores: OCT4, CD117, CD30 y Glypican 3, que podrían reducirse según sugiera la morfología.

- OCT4 (positividad nuclear en seminoma, carcinoma embrionario y CIS, negativo en el resto de tumores germinales).

- **CD117** o podoplanina o SOX17 (+ en seminoma, – en carcinoma embrionario).
- **CD30** o AE1AE3 o SOX2 (+ en carcinoma embrionario, negativo en seminoma). Su expresión puede perderse tras quimioterapia.
- Glypican 3 (positivo en tumor del saco vitelino, y ± en coriocarcinoma, - en seminoma y raro en carcinoma embrionario)

En el DD entre tumor de células germinales y otros tipos tumorales se recomienda:

- SALL4: + en tumores de células germinales.
- Inhibina o calretinina: + en tumores de estroma-cordones sexuales.
- Marcadores específicos de otras neoplasias: linfoides, PSA, fosfatasa ácida prostática, EMA (raramente + en tumores germinales),...

ESTUDIOS MOLECULARES: Actualmente no hay factores pronósticos moleculares validados clínicamente para los tumores testiculares. Excepcionalmente se realizará estudio molecular de isocromosoma 12p por FISH en casos de tumor extratesticular para identificación de origen germinal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Algaba F, Alvarez-Argüelles H, Condom E, et al. Protocolos diagnósticos y pronósticos en Uropatología. Protocolos de la Sociedad Española de Anatomía Patológica. VB. Madrid, 2001.
2. Winstanley AM, Mikuz G, Debruyne F, Schulman CC, Parkinson MC. Handling and reporting of biopsy and surgical specimens of testicular cancer. *Eur Urol* 2004; 45: 564-73.
3. Latendresse JR, Warbritton AR, Jonassen H, Creasy DM. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol Pathol.* 2002; 30: 524-33.
4. Ulbright TM, Amin MB, Young RH. *Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord, and Scrotum* Vol., Armed Forces Institute of Pathology: Washington DC, 1999.
5. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs.* Lyon, France: IARC Press; 2004.
6. William H. Westra, Ralph H. Hruban, Timothy H. Phelps and Christina Isacson. *Surgical Pathology Dissection. An Illustrated Guide.* Second Edition. 2003.
7. Jeetle SS, Berney DM. Testing testes: problems and recent advances in the diagnosis of testicular tumours and implications for treatment. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2012; 24: 30-38.
8. Emerson RE, Ulbright TM: Morphological approach to tumours of the testis and paratestis. *J Clin Pathol.* 2007; 60: 866-880.
9. Ye H, Ulbright TM.: Difficult differential diagnoses in testicular pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136: 435-46.
10. Sobin, M K. Gospodarowicz. L. *TNM Classification of Malignant Tumours,* 7th Edition, 2009.
11. Berney DM. Staging and classification of testicular tumours: pitfalls from macroscopy to diagnosis. *J Clin Pathol.* 2008; 61: 20-24.

12. Berney DM. Update on testis tumours. *Pathology*. 2012; 44: 419-426.
13. Groll RJ, Warde P, Jewett MA. A comprehensive systematic review of testicular germ cell tumor surveillance. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;64: 182–197.
14. Warde P, Specht L, Horwich A, Oliver T, Panzarella T, Gospodarowicz et al. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance: a pooled analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20:4448–4452.
15. Kamba T, Kamoto T, Okubo K, Teramukai S, Kakehi Y, Matsuda T, et al. Outcome of different post-orchietomy management for stage I seminoma: Japanese multi-institutional study including 425 patients. *Int J Urol* 2010;17: 980–987.
16. Dunphy CH, Ayala AG, Swanson DA, Ro JY, Logothetis C. Clinical stage I nonseminomatous and mixed germ cell tumors of the testis. A clinicopathologic study of 93 patients on a surveillance protocol after orchietomy alone. *Cancer* 1988;62: 1202–1206.
17. Alexandre J, Fizazi K, Mahe C, Culine S, Droz JP, Theodore C et al. Stage I nonseminomatous germ-cell tumours of the testis: identification of a subgroup of patients with a very low risk of relapse. *Eur J Cancer* 2001;37:576–582.
18. Elert A, Olbert P, Hegele A, Barth P, Hofmann R, Heidenreich A. *Eur Urol*. 2002 Mar;41(3):290-3. Accuracy of frozen section examination of testicular tumors of uncertain origin.
19. Nistal M, Paniagua R, González-Peramato P. Nonneoplastic diseases of the testis. En "Urologic Surgical Pathology". 3rd Ed. Editores: Bostwick DG, Cheng L. Editorial Elsevier Saunders. Philadelphia 2014. ISBN: 978-1-4557-4327-8. Pp: 560-735.
20. Ulbright TM, Tickoo SK, Berney DM, Srigley JR; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol*. 2014; 38: e50-9.
21. Emerson, R. E. and T. M. Ulbright . The use of immunohistochemistry in the differential diagnosis of tumors of the testis and paratestis. *Semin Diagn Pathol* 2005. 22:33–50.

Protocolo de muestras de pene

Rafael J. Luque Barona ⁽¹⁾, Eugenia García Fernández ⁽²⁾, Rocío Solórzano Marisca ⁽³⁾,

(1) Complejo hospitalario de Jaén

(2) Hospital Universitario "La Paz", Madrid.

(3) Complejo hospitalario de Jaén

I. RECOMENDACIONES DE ENVÍO DE LA MUESTRA

Si bien la condición ideal de recepción de las muestras sería en fresco, para proceder a su manipulación inicial prefijación (véase abajo), en función de las características del hospital se podrán recibir en un contenedor con una cantidad adecuada de formaldehído, acorde a los procedimientos de envío y transporte de muestras de cada Unidad.

II. ESTUDIO MACROSCÓPICO

Manipulación de los distintos tipos de piezas (muestras)

PIEZAS DE CIRCUNCISIÓN

Se tomarán las medidas en tres dimensiones, describiendo el aspecto externo, identificando la localización y características del tumor presente en la muestra para reflejarlas en la descripción macroscópica. Se recomienda identificar los márgenes mucoso y cutáneo con tinta de color diferente y realizar un procedimiento que permita la extensión de la muestra previa a la fijación (p.e. pinchar en una superficie plana) para posteriormente seccionar de forma completa en sentido vertical, incluyendo en su totalidad el espécimen.

PIEZAS DE PNECTOMÍA (PARCIAL O TOTAL)

De igual forma que en el apartado anterior, se tomarán las medidas de la pieza.

A continuación se separará mediante afeitado la sección correspondiente al margen de resección proximal, incluyendo la circunferencia uretral completa (Figura 1), la lámina propia periuretral, el cuerpo esponjoso, la albugínea, los cuerpos cavernosos, la fascia peneana, el dartos y la piel del tallo, por lo que debido a la retracción del tejido pueden ser precisas varias secciones que incluyan la totalidad de las estructuras.

Tras la fijación completa de la muestra, si el tumor de gran tamaño y afecta la mayor parte del glande, se cortará la pieza longitudinalmente por la porción central usando el meato y la uretra proximal como referencias, sin realizar sondaje uretral. Posteriormente se procederá a separar las dos partes y realizar una sección seriada transversal de la pieza cada 2-3 mm (figura). En caso de tumores pequeños y lateralizados, se pueden realizar las secciones a partir de la porción central de los mismos. Es importante no separar el prepucio de la pieza hasta comprobar que no se encuentra afectado por el tumor y respetando el surco coronal (dejar un margen de unos tres milímetros). En caso de ser separado, se procesaría como en los casos de circuncisión (véase arriba).

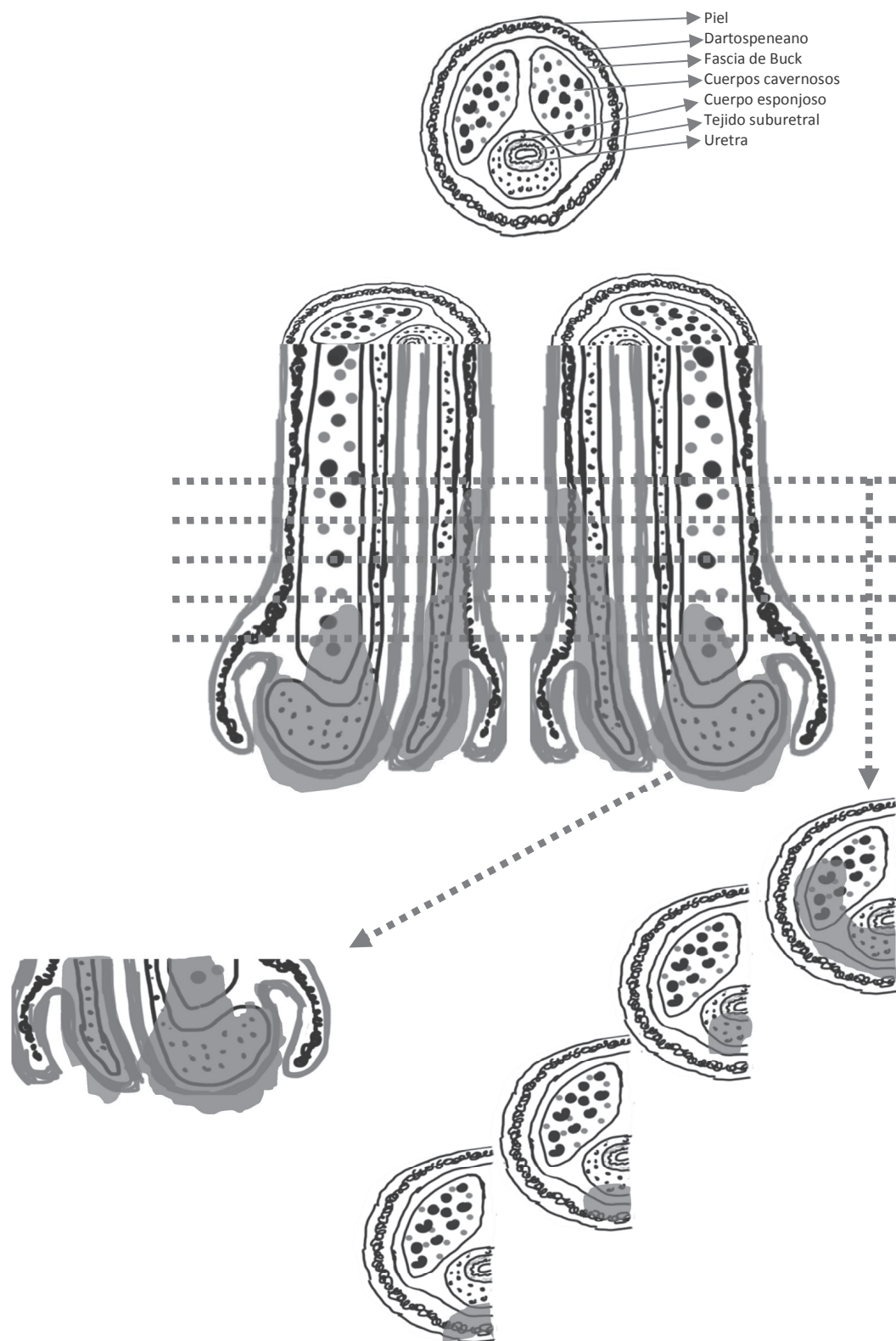


Figura 1: Esquema del procesamiento de la pieza de penectomía 1. Sección transversal correspondiente al margen de resección proximal, con las estructuras anatómicas a considerar, **2**, Sección longitudinal centrada en la uretra, mostrando la extensión de una neoplasia originada en glándula que afecta la uretra distal, cuerpos esponjoso y cavernosos, con extensión proximal a piel, sin afectación del margen. **3**. Identificación de la extensión a las distintas estructuras anatómicas en las secciones transversales.

Datos a reflejar en descripción macroscópica**PIEZAS DE CIRCUNCISIÓN**

Se referirán las medidas en tres dimensiones, describiendo el aspecto externo, identificando la localización y características del tumor presente en la muestra, indicando la distancia a los márgenes cutáneo y mucoso y su extensión en la pieza.

PIEZAS DE PNECTOMÍA (PARCIAL O TOTAL)

En primer lugar se referirán las medidas de la pieza, describiendo su aspecto externo e incluirá la presencia o no de prepucio y sus características [incluyendo la presencia de fimosis, dato considerado como factor de riesgo de carcinoma. Se reconocen tres tipos de prepucio; corto (el anillo prepucial se localiza detrás de la corona del glande); medio (el anillo está entre la corona y el meato urinario) y el largo (tanto el glande como el meato están cubiertos y no se ven si no se retrae el prepucio)].

Posteriormente se realiza la descripción de la neoplasia (o neoplasias, si se trata de tumores multicéntricos): localización, indicando las distintas regiones afectadas (glande, surco coronal o superficie mucosa del prepucio, si se encuentra localizado en la porción distal, superficie cutánea del prepucio o del tallo, si surge en la superficie cutánea), el tamaño máximo (se recomienda usar las tres dimensiones) del tumor o tumores, sus características macroscópicas (plano, ulcerado, polipoide, verrucoso, ... áreas de necrosis y hemorragia) incluyendo el carácter infiltrativo o desplazante del frente de invasión tumoral y la extensión macroscópica máxima detectada (véase esquema en figura). Así mismo se indicará la posible afectación macroscópica de los márgenes quirúrgicos, especificando la localización de la afectación.

Protocolo recomendado de selección de las secciones en tallado**PIEZAS DE CIRCUNCISIÓN**

Se realizará una inclusión completa tras el seriado de la pieza en sentido longitudinal, identificando el cuadrante al que corresponde cada grupo de secciones o mediante un código horario.

PIEZAS DE PNECTOMÍA

El margen de resección ha de incluirse completo. Un bloque habrá de contener la uretra y el cilindro periuretral y el resto del margen se incluirá en los bloques necesarios.

Se recomienda incluir un mínimo de 2 a 6 secciones de la neoplasia en función del tamaño de la misma, especialmente en aquellos puntos que muestren la infiltración más profunda, la relación con la uretra y la superficie cutánea.

Así mismo se incluirá de forma seriada el prepucio completo, como en una pieza de circuncisión.

III. ESTUDIO MICROSCÓPICO/DIAGNÓSTICO

En principio no se considera necesario realizar una descripción microscópica específica a menos que el caso sea especialmente complejo (tumores híbridos, tipos histológicos poco habituales). Según el contexto del centro y la relación más o menos estrecha con los clínicos responsables puede optarse por incluir en este apartado parte de los datos que se incluyen en el apartado correspondiente al diagnóstico.

El **DIAGNÓSTICO** ha de incluir los siguientes datos: Tipo de muestra recibida, localización del tumor, tamaño en centímetros, tipo y grado histológico (y proporción de grado 3 si lo hubiera), patrón de crecimiento tumoral, nivel anatómico de invasión, estadio patológico según el sistema TNM, espesor máximo del tumor (en milímetros), invasión linfovascular y perineural y estado de los márgenes de resección, indicando en caso de afectación si se trata del margen cutáneo o mucoso (piezas de circuncisión), uretral o periuretral, corporal o cutáneo.

De forma opcional y en función del contexto del centro en el que se realice el estudio se puede incluir en la línea diagnóstica tan sólo los siguientes datos: tipo histológico del tumor, grado, estadio patológico y estado del margen del resección, e incluir el resto de los datos en la descripción microscópica.

En una segunda línea diagnóstica se incluirán las posibles lesiones asociadas, como los distintos tipos de neoplasia intraepitelial penéana, liquen escleroso o afectación dermatológica inflamatoria de otro tipo.

En las muestras de **linfadenectomía** se indicará la localización de la muestra y se incluirá el número total de ganglios aislado y el número de ganglios metastásicos, así como la presencia de extensión extra-capsular.

La **clasificación del tipo histológico** se realizará de acuerdo a la actual clasificación de neoplasias de la OMS. En este sentido es conveniente destacar que más del 50% de los casos corresponderá a carcinoma epidermoide queratinizante, si bien existen otras variantes histológicamente características que se asocian a un pronóstico diferente de forma que se puede reconocer un grupo de tumores de bajo riesgo (verrucoso, papilar, condilomatoso, pseudohiperplásico y cuniculado) en contraste con un grupo de alto riesgo (basaloide, sarcomatoide, adenoescamoso y carcinoma epidermoide estándar pobremente diferenciado). En una categoría intermedia se encontrarían la mayoría de los carcinomas epidermoides queratinizantes, carcinomas verrucosos híbridos y variantes de alto grado de carcinomas tipo warty/condilomatoso.

Dado que el reconocimiento de estos tipos histológicos tiene gran importancia, proponemos el siguiente algoritmo auxiliar para el diagnóstico:

¿El tumor muestra papilomatosis?

Sí: ¿base tumoral amplia?

Sí: ¿Invasión de estructuras profundas?

Sí: **Carcinoma cuniculado.**

No: **Carcinoma verrucoso.**

No: ¿coilocitosis?

Sí: **Carcinoma tipo warty/condilomatoso.**

No: **Carcinoma papilar**

No: ¿Características glandulares?

Sí: ¿glándulas verdaderas?

Sí: **Carcinoma adenoescamoso.**

No: **Carcinoma pseudoglandular.**

No: ¿grado histológico?

Alto: ¿Células uniformes en nidos?

Sí: **Carcinoma basaloide.**

No: ¿células fusiformes?

Sí: **Carcinoma sarcomatoide.**

No: **Carcinoma epidermoide de alto grado.**

Bajo grado: ¿patrón de crecimiento pseudoepiteliomatoso?

Sí: **Carcinoma pseudohiperplásico**

No: **Carcinoma epidermoide de bajo grado.**

Adaptado de Chaux et al. Urology 2010, 76 (Suppl 2A): S7–S14.

Respecto al **grado histológico**, se trata de un factor pronóstico reconocido predictor de metástasis inguinales y de diseminación a distancia y se ha demostrado una variación interobservador significativa (la concordancia llega en algún estudio tan sólo al 67% de los casos) por lo que es precisa una estimación objetiva del mismo de acuerdo a criterios establecidos. Por ello recomendamos el sistema indicado en la última versión del protocolo del Colegio Americano de Patólogos:

Grados histológicos aplicables al carcinoma de pene:

- **Grado 1:** se trata de casos extremadamente bien diferenciados, con desviación mínima respecto a la morfología de un epitelio escamoso normal o hiperplásico.
- **Grado 2:** tumores con crecimiento más desorganizado que el grado 1, con mayor relación núcleo-citoplasma, mitosis evidentes y queratinización escasa, aunque presente.
- **Grado 3:** tumores que muestran cualquier proporción de células anaplásicas, dispuestas en sábanas sólidas o agregados irregulares de pequeño tamaño, nidos o cordones de células con queratinización mínima o ausente, alta razón núcleo-citoplasma, membranas nucleares gruesas, pleomorfismo nuclear, cromatina condensada, nucléolos prominentes y mitosis numerosas

El grado de un tumor concreto se asigna en función del componente menos diferenciado presente en la muestra. La proporción correspondiente al grado 3 se reflejará en el informe.

Se considera opcional y siempre tras discusión con el equipo clínico responsable del manejo de los pacientes la inclusión de nomogramas pronósticos recogidos en la literatura,

TABLA RESUMEN: Datos a reflejar en el informe anatomopatológico en neoplasias de pene

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA

- Medidas de la pieza
- Presencia y tipo de prepucio
- Localización de la neoplasia
- Regiones afectadas
- Tamaño máximo
- Configuración macroscópica
- Frente de invasión tumoral
- Extensión anatómica máxima
- Estado márgenes quirúrgicos (especificar localización)

DIAGNÓSTICO (*)

- **Tipo de muestra**
 - **Datos de la neoplasia:**
 - *Localización del tumor*
 - *Tamaño tumoral*
 - **Tipo histológico (clasificación OMS)**
 - **Grado histológico (indicando proporción de grado 3)**
 - *Patrón de crecimiento tumoral*
 - *Nivel anatómico de invasión*
 - **Estadio patológico (pTNM)**
 - *Espesor máximo del tumor*
 - *Invasión linfovascular*
 - *Invasión perineural*
 - **Estado de los márgenes de resección, indicando localización)**
 - **Lesiones asociadas.**
 - **Datos referidos a linfadenectomía:**
 - **Número total de ganglios aislado**
 - **Número de ganglios metastásicos**
 - **Presencia de extensión extracapsular.**

(*): Según preferencias pueden reflejarse los datos en cursiva en la descripción microscópica y los datos en negrita en la línea de diagnóstico

IV. ESTUDIOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

El estudio rutinario del carcinoma invasivo de pene no requiere del uso de técnicas inmunohistoquímicas o moleculares salvo aquellos casos tan indiferenciados que planteen el diagnóstico diferencial con tipos de neoplasia no habitual (melanoma, linfoma) para lo que se atenderá a los protocolos existentes en cada centro.

En el caso de la neoplasia intraepitelialpeneana (PeIN) el uso de p16 puede ser útil para diferenciar los distintos tipos, ya que la PeIN diferenciada (simple) no expresa este marcador al no estar relacionada con infección por HPV, en tanto que los tipos warty y basaloide sí lo expresan al relacionarse con este tipo de infección.

Respecto a marcadores pronósticos, en la actualidad no existen marcadores inmunohistoquímicos o moleculares útiles en la práctica clínica, por lo que no se recomienda su uso habitual.

No obstante, en los centros disponibles, la determinación de infección por HPV puede aportarse como dato adicional por cuanto se ha demostrado un valor pronóstico en determinados casos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chaux A, Velazquez EF, Algaba F, et al. Developments in the Pathology of Penile Squamous Cell Carcinomas Urology 2010, 76 (Suppl 2A): S7–S14.
2. Chaux A, Caballero C, Soares F, et al. The prognostic index: a useful pathologic guide for prediction of nodal metastases and survival in penile squamous cell carcinoma. *Am J SurgPathol.* 2009; 33: 1049-1057.
3. Cubilla AL, Dillner J, Schellhammer PF, Horenblas S. Malignant epithelial tumors. In: Eble JN, Sauter G, Epstein J, Sesterhenn I, eds. *Pathology and Genetics of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs.* Lyon, France: IARC Press; 2004. *World Health Organization Classification of Tumours.*
4. Cubilla AL, Reuter V, Velazquez E, Piris A, Saito S, Young RH. Histologic classification of penile carcinoma and its relation to outcome in 61 patients with primary resection. *Int J SurgPathol.* 2001;9(2):111-120.
5. Edge SB, Byrd DR, Carducci MA, Compton CC, eds. *AJCC Cancer Staging Manual.* 7thed. New York, NY: Springer; 2009.
6. Kroon BK, Leijte JA, van Boven H, et al. Microarray gene-expression profiling to predict lymph node metastasis in penile carcinoma. *BJU Int* 2008; 102: 510–515.
7. Madsen BS, van den Brule AJ, Jensen HL, Wholfahrt J, Frisch M. Risk factors for squamous cell carcinoma of the penis: population-based case-control study in Denmark. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(10):2683-2691.
8. Naumann C, Alkatout I, Hamann MF, et al. Interobserver variation in grading and staging of squamous cell carcinoma of the penis in relation to the clinical outcome *BJU Int* 2009; 103: 1660-1665.
9. Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S et al. EAU Penilecancer guidelines 2009. *EurUrol* 2010; 57: 1002–1012.
10. Thuret R, Sun M, Abdollah F, et al. Tumor Grade Improves the Prognostic Ability of American Joint Committee on Cancer Stage in Patients With Penile Carcinoma *J Urol* 2011, 185: 501-507.
11. Van Poppel H, Watkin NA, Osanto S, Moonen L, Horwich A, Kataja V, on behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Penile cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24 (Suppl 6): vi115–vi124.

12. Velazquez EF, Amin MB, Epstein JI, et al, for the Members of the Cancer Committee, and College of American Pathologists (2010) Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Penis. Arch PatholLab Med 2010, 134 (6): 923-929.

RECOMENDACIONES DE NO HACER

Introducción

Santiago Nieto LLanos

Vocal de los Clubes de la SEAP

En el contexto del proyecto del Ministerio de Sanidad denominado “Compromiso por la calidad de las sociedades científicas”, la SEAP, al igual que otras sociedades científicas médicas españolas, recibió una solicitud institucional para proponer 10 “Recomendaciones de NO HACER”.

Desde la SEAP se pensó que el mejor vehículo para hacer estas propuestas de mejora en la práctica clínica en nuestra especialidad eran los clubes y se solicitó a todos los coordinadores que remitiesen aquéllas que considerasen más relevantes en cada una de sus áreas específicas. Varios clubes emitieron numerosas propuestas pero, debido a las limitaciones del proyecto ministerial fue preciso elegir, en base a criterios de su repercusión en número de pacientes, únicamente diez de entre todas ellas que, cuando el proyecto llegue a su fin, quedarán reducidas a cinco.

No obstante, nos pareció que sería lamentable que, por las características del diseño del proyecto ministerial, gran parte del trabajo que muchos compañeros habían realizado a través de los clubes, quedase oculto. Por ello y dado que nuestra sociedad tiene su propio instrumento para proponer y avalar mejoras en cuanto a manejo clínico, que no es otro que el libro blanco, estimamos que merecería la pena publicar en este capítulo todas las propuestas realizadas por los clubes para garantizar el acceso a las mismas por todos los miembros de nuestra sociedad.

Siguiendo el formato que se nos indicó desde el Ministerio de Sanidad la mayoría de las propuestas son recomendaciones de NO hacer y muchas se acompañan de avales bibliográficos. Se publican aquí agrupadas a partir de los distintos clubes que las emitieron, haciendo referencia a los miembros de cada club que participaron en su elaboración.

Recomendaciones de NO HACER

LA SEAP RECOMIENDA:

- ✓ **NO tratar ningún cáncer sin confirmación histológica/citológica.**

Relevancia clínica

Imprescindible para la elaboración de un pronóstico y aplicación de un tratamiento.

Población a la que afecta: Todos los pacientes diagnosticados de cáncer (103.407 nuevos casos por año 2012)

Referencias bibliográficas que apoyan esta recomendación:

- *Principios de Medicina Interna* Autores: Harrison & Fauci Editorial: McGraw-Hill Interamericana 17ª Edición - Año 2008. *Oncología y Hematología. Sección 1 Estudio del paciente con cáncer. Pag 479.*
- *Diagnostic Histopathology of Tumors: 2 Volume Set, 4th Edition* By Christopher D. M. Fletcher, MD, FRCPath ISBN: 978-1-4377-1534-7. 2013 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.
- *Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012.* Sánchez MJ1, Payer T, De Angelis R, Larrañaga N, Capocaccia R, Martínez C; CIBERESP Working Group. *Ann Oncol.* 2010 May;21 Suppl 3:iii30-36.

EL CLUB DE DERMATOPATOLOGIA RECOMIENDA:

- ✓ **NO basar el diagnóstico de melanoma y/o el diagnóstico diferencial con lesiones melanocíticas benignas en hallazgos no morfológicos (inmunohistoquímicos o moleculares).**
- ✓ **NO emitir diagnóstico de melanoma sin variables con valor pronóstico: Ulceración, espesor de Breslow, fase de crecimiento, tipo de celularidad, regresión, índice mitótico, invasión vascular, estado de márgenes quirúrgicos, estadio TNM, etc.**
- ✓ **NO emitir diagnósticos de ganglio centinela en pacientes con melanoma sin realizar procesamiento protocolizado con estudio inmunohistoquímico para células melanocíticas.**
- ✓ **NO diagnosticar tumores anaplásicos en piel fotoexpuesta sin realizar estudio inmunohistoquímico para descartar neoplasias con comportamiento agresivo (fundamentalmente melanoma).**
- ✓ **NO descartar la posibilidad de linfoma primario cutáneo solo por la ausencia de reordenamiento monoclonal.**

- ✓ **NO basar el diagnóstico de linfomas primarios cutáneos en hallazgos moleculares (reordenamiento monoclonal) en ausencia de correlación clínica / histológica / inmunohistoquímica.**
- ✓ **NO realizar de forma sistemática determinación y tipado de HPV en parejas masculinas de pacientes con infección de HPV en ausencia de lesión mucosa anogenital.**
- ✓ **NO realizar diagnósticos de dermatosis inflamatorias sin una correlación clínico-patológica adecuada.**
- ✓ **NO basar el diagnóstico de patología inflamatoria cutánea en hallazgos inespecíficos (ejemplo: lupus eritematoso ante la presencia únicamente de mucina intersticial en dermis reticular).**

EL CLUB DE LINFOMAS RECOMIENDA:

Autores: Santiago Montes Moreno, Manuela Mollejo Villanueva, Máximo Fraga, Juan Fernando García, José Luis Villar, Antonio Martínez, Socorro María Rodríguez Pinilla, Ana Batlle, Mariano Provencio Pulla, María Rozmán, Ramón García Sanz

- ✓ **NO utilizar la PAAF (Punción-aspiración con aguja fina) de forma aislada para el diagnóstico inicial de un paciente con adenopatías y sospecha clínica de proceso linfoproliferativo. No obstante puede ser suficiente para establecer un diagnóstico de recidiva. La biopsia escisional/incisional de la adenopatía o tejido extraganglionar afecto es el método de elección para el diagnóstico inicial de los casos con sospecha de proceso linfoproliferativo.** En los casos en que por la situación clínica del paciente se realice una BAG (Biopsia con aguja gruesa) el estudio de la muestra de BAG debe incluir siempre, además del estudio morfológico, técnicas auxiliares (citometría de flujo, inmunohistoquímica, análisis de reordenamientos mediante FISH y, en situaciones concretas, análisis de clonalidad linfoide B y T).

Referencias bibliográficas que apoyan esta recomendación:

- Parker A BB, Devereux S, Gatter K, Jack A, Matutes E, Rooney N, Ross F, Wilkins B, Wotherspoon A, Ramsay A. *Best Practice in Lymphoma Diagnosis and Reporting*; 2012.
- NCCN Guidelines, *Non Hodgkin Lymphomas*; 2014.
- Ghirardelli ML, Jemos V, Gobbi PG. *Diagnostic approach to lymph node enlargement. Haematologica*. 1999 Mar;84(3):242-7.
- Fletcher RH. *Evaluation of peripheral lymphadenopathy in adults. UpToDate (last updated: jun19, 2012).*

EL CLUB DE NEUROPATOLOGÍA RECOMIENDA:

- ✓ **NO debe emitirse el diagnóstico definitivo de oligodendroglioma sin el estudio de la delección 1p19q (por el mismo Servicio o referido a otro que disponga de la técnica)**

Relevancia clínica

La recomendación tiene un impacto clínico, en el sentido de conocer qué pacientes se beneficiaran de un tratamiento concreto

- ✓ **NO debe emitirse un diagnóstico definitivo de glioblastoma multiforme sin acompañarse del estado de metilación de la enzima metilguanilmetiltransferasa (MGMT)**

Relevancia clínica

La recomendación tiene un impacto clínico, en el sentido de conocer qué pacientes se beneficiaran de un tratamiento concreto

- ✓ **NO se debe establecer el diagnóstico anatomopatológico de demencia sin un mínimo de estudio estandarizado.**

Referencias Bibliográficas que apoyan estas recomendaciones

- Riemenschneider MJ1, Louis DN, Weller M, Hau P. Refined brain tumor diagnostics and stratified therapies: the requirement for a multidisciplinary approach. *Acta Neuropathol.* 2013 Jul;126(1):21-37.
- Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Tumors of the Brain/Spinal Cord Protocol applies to all primary neoplasms of the brain/spinal cord/peripheral nerve and pituitary. Metastatic tumors are not included. American College of Pathology. January 30, 2013. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/CNS_13protocol.pdf
- Riemenschneider MJ1, Louis DN, Weller M, Hau P. Refined brain tumor diagnostics and stratified therapies: the requirement for a multidisciplinary approach. *Acta Neuropathol.* 2013 Jul;126(1):21-37.
- Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Tumors of the Brain/Spinal Cord Protocol applies to all primary neoplasms of the brain/spinal cord/peripheral nerve and pituitary. Metastatic tumors are not included. American College of Pathology. January 30, 2013. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/CNS_13protocol.pdf

EL CLUB DE PATOLOGÍA DIGESTIVA RECOMIENDA:

- ✓ **NO agotar el material endoscópico en pacientes diagnosticados de patología tumoral mediante este método (tumor primario) ni remitir bloque único para su uso en ensayos clínicos. Si esto último se considera necesario (incluir en ensayo clínico), se recomienda rebiopsiar al paciente.**

Relevancia clínica y población afectada

El carcinoma colorrectal es muy frecuente y su diagnóstico por biopsia endoscópica hace que el material parafinado sea escaso. El rápido avance en la terapia génica hace necesario de disponer siempre de material para hacer los estudios moleculares y/o inmunohistoquímicos pertinentes que puedan beneficiar al paciente.

Referencia que apoya esta recomendación

- Navarro S, Musulén Palet E, Cuatrecasas M, Landolfi S, Ramón y Cajal S, García-Carbonero R, García-Foncillas, Pérez-Segura P, Salazar R y García-Alfonso P. Actualización de la recomendación para la determinación de biomarcadores en el carcinoma colorrectal. *Consenso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y de la Sociedad Española de Oncología Médica. Rev Esp Patol.* 2015;48:14-24

EL CLUB DE PATOLOGÍA MAMARIA RECOMIENDA:

Autores: Alicia Córdoba, Laia Bernet

- ✓ **NO tratar ningún cáncer de mama sin un estudio de factores pronósticos y predictivos (ER, PR, Her2)**

Relevancia clínica y población afectada

Son los factores pronósticos más relevantes y la información básica para elaborar el tratamiento. Constituyen el 100% de las pacientes con cáncer de mama (330.000 casos nuevos al año en UE/27000 casos nuevos al año en España)

Referencias bibliográficas que apoyan esta recomendación:

- The updated ASCO/CAP guideline recommendations for HER2 testing in the management of invasive breast cancer: a critical review of their implications for routine practice Rakha EA, Starczynski J, Lee AHS & Ellis IO *Histopathology* 2014, 64, 609–615. DOI: 10.1111/his.12357
- American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer Hammond HE, . Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, . Haggerty KL *Arch Pathol Lab Med.* 2010 Jun; 134(6): 907–922.

- *Pathologists' Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. Breast Care (Basel). 2010;5(3):185-187.*
 - *Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. Arch Pathol Lab Med. doi: 10.5858/arpa.2013-0953-SA*
 - *American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer Wolff AC1, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF; J Clin Oncol. 2013 Nov 1;31(31):3997-4013*
 - *Recomendación para la determinación de HER2 en cáncer de mama. Consenso nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) Guidelines for HER2 testing in breast cancer. A national consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. José Palacios, X Andreu. M J Calasanz, Á Concha, J M Corominas, T García-Caballero, J A López, F López-Ríos, S Ramón y Cajal; F J. Vera-Sempere, R Colomer, M Martín, E Alba, A González, A Llombart, A Lluch, J Albanell*. Rev Esp de Patol 2009; 42(1): 3-16.*
 - *Cancer incidence and mortality in Spain: estimates and projections for the period 1981-2012. Sánchez MJ1, Payer T, De Angelis R, Larrañaga N, Capocaccia R, Martínez C; CIBERESP Working Group. Ann Oncol. 2010 May;21 Suppl 3:iii30-36*
- ✓ **NO realizar linfadenectomía en pacientes con cáncer de mama y ganglio centinela con metástasis pequeñas (grupo celular aislado-micrometástasis)**
Referencias bibliográficas que apoyan la recomendación
- *Bernet L, Piñero A, Vidal-Sicart S et al. Consenso sobre la biopsia selectiva del ganglio centinela en el cáncer de mama. Revisión 2013 de la Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. Rev Esp Patol. 2014;47:22-32*
 - *ADASP Recommendations for Processing and Reporting of Lymph Node Specimens Submitted for Evaluation of Metastatic Disease. Mod Pathol. 2001 Jun;14(6):629-32*
 - *Giuliano AE, McCall L, Beitsch P et al. Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. Ann Surg. 2010;252:426-32.*
- ✓ **NO está recomendado ampliar bordes si no hay células tumorales en la tinta china (cirugía conservadora, pieza quirúrgica).**
Referencias bibliográficas que apoyan esta recomendación
- *Society of Surgical Oncology–American Society for Radiation Oncology Consensus Guideline on Margins for Breast-Conserving Surgery With Whole-Breast Irradiation in Stages I and II Invasive Breast Cancer M S. Moran, J. Schnitt, A E. Giuliano, JR. Harris, SA. Khan, J Horton, S Klimberg, MChavez-MacGregor, G Freedman, N Houssami, P L. Johnson , M Morrow JCO February 10, 2014 JCO.2013.53.3935*

EL CLUB DE PATOLOGÍA GINECOLÓGICA RECOMIENDA:

Autores: Xavier Matias-Guiu, Esther Oliva, María Alejo, Iñaki Arias-Camisón, Rosa Guarch

A NUESTROS COMPAÑEROS CLÍNICOS:

- ✓ **NO omitir datos de la historia clínica ginecológica (fecha de última regla, etc) en las solicitudes de biopsias endometriales para trastornos funcionales del endometrio**

- ✓ **Enviar en fresco y con la mayor celeridad**
 - Las piezas de conización (o similares), para facilitar valoración de márgenes de resección.
 - Las piezas tumorales grandes y piezas de histerectomía, para que el patólogo controle las condiciones de fijación, ya que una fijación inadecuada puede impedir valorar factores pronósticos relevantes.
- ✓ **Prestar especial atención al subtipo patológico en la biopsia endometrial con cáncer de endometrio al plantear la cirugía de una paciente con cáncer de endometrio, ya que el enfoque quirúrgico es diferente para un carcinoma endometriode y uno seroso.**
- ✓ **Hacer una adecuada valoración del estado del peritoneo (con toma de muestras) en la valoración de estadio de un tumor ovárico.**
- ✓ **Hacer una extirpación adecuada de parametrios cuando se extirpe un cáncer de cérvix**
- ✓ **NO hacer biopsia intraoperatoria de TODOS los ganglios linfáticos pélvicos en un cáncer de cérvix.**
- ✓ **Ser consciente que un diagnóstico biópsico de hiperplasia atípica de endometrio, comporta un cierto riesgo de que haya un carcinoma de endometrio en la pieza de histerectomía.**
- ✓ **Ser consciente de que ante un diagnóstico de carcinoma endometriode en un pólipo endometrial en una pieza de polipectomía histeroscópica, existe la posibilidad que no haya tumor en la pieza de histerectomía**
- ✓ **Ser consciente de que pueden haber discrepancias en la valoración del grado histológico en un carcinoma endometriode de endometrio entre la biopsia y la pieza de histerectomía, simplemente por un problema de representatividad de la biopsia.**
- ✓ **Ser consciente que en la enfermedad de Paget de la vulva, los márgenes pueden ser positivos, aunque estén macroscópicamente lejanos al tumor.**
- ✓ **Ser consciente de que un VIN 3 bien diferenciado puede ser multicéntrico, clínicamente irrelevante, y que comporta un riesgo a desarrollo posterior de cáncer de vulva**
- ✓ **Ser consciente de que en ciertos tumores ginecológicos (sarcomas endometriales de bajo grado, tumores de células de granulosa), el tumor puede recidivar después de muchos años de la extirpación del tumor.**
- ✓ **Ser consciente de que hay carcinomas endometrioides que pueden originarse fuera del tracto ginecológico, en zonas de endometriosis**
- ✓ **Ser consciente de que en casos de carcinomas endometrioides simultáneos de endometrio y de ovario, puede ser imposible discriminar patológicamente si los tumores son independientes, o uno es metastático del otro.**
- ✓ **Tener exquisito cuidado al remitir las muestras al Servicio de Anatomía Patológica, evitando errores de etiquetado e identificación de muestras**
- ✓ **NO abrir las piezas quirúrgicas (especialmente útero) ya que pueden afectar un examen adecuado de la pieza y lesiones existentes.**

- ✓ NO pedir estudios intraoperatorios de biopsias de endometrio como primer diagnóstico de cáncer de endometrio.
- ✓ NO dejar la hoja de información clínica en blanco.
- ✓ NO dejar sin seguimiento pacientes con diagnóstico de cáncer de endometrio <50 años para descartar Síndrome de Lynch.
- ✓ NO hacer morcelaciones uterinas ni ováricas ya que conllevan un riesgo para el paciente (diagnóstico y de estiaje).
- ✓ NO tratar un tumor (seroso o mucinoso) de ovario con solo anexectomía cuando se hace una extemporanea y el diagnostico provisional es "borderline".
- ✓ NO pedir extemporaneas de conizaciones o Leeps ya que el artefacto que se introduce en la extemporanea puede afectar la interpretacion patológica final de la pieza.
- ✓ NO pedir estudios intraoperatorios si no van a suponer un cambio inmediato en la actitud quirúrgica durante la intervención.
- ✓ NO decir a los patólogos las pruebas complementarias que tienen que pedir (en relación a inmunohistoquímica, patología molecular...).

A LOS PATÓLOGOS:

- ✓ NO efectuar un diagnóstico de tumor ovárico (especialmente un borderline mucinoso) sin un muestreo adecuado
- ✓ NO dar por supuesto un origen primitivo, ante un tumor mucinoso de ovario
- ✓ NO confundir invasión miometrial y extensión a adenomiosis, cuando se valore la invasión miometrial en cáncer de endometrio
- ✓ Hacer inmunohistoquímica si se duda en el diagnóstico diferencial entre carcinoma endometriode y carcinoma seroso de endometrio.
- ✓ Prestar atención a las características macroscópicas de los tumores ováricos, especialmente en lo referente a ruptura o invasión capsular.
- ✓ Estudiar la fimbria de las trompas de Falopio ante un carcinoma seroso de alto grado de ovario
- ✓ Muestrear adecuadamente el epiplon en el estadiaje de canceres de ovario
- ✓ Interpretar los resultados inmunohistoquímicos, siempre integrándolos en la morfología de las lesiones.
- ✓ Ser consciente que en los carcinomas pequeños de cuello uterino, hay que valorar conjuntamente la pieza de histerectomía y la conización (o similar) previa, para valorar adecuadamente el nivel de invasión

- ✓ Prestar atención al componente glandular endocervical cuando se valoran biopsias cervicales para evaluar lesiones displásicas escamosas.
- ✓ Prestar atención a la posible presencia de carcinoma endometrial intraepitelial (carcinoma seroso intraepitelial) cuando se valoran polipectomías endometriales
- ✓ NO valorar como tejido endometrial los focos de hiperplasia microglandular de endocervix, que a veces son arrastrados con el material procedente de la cavidad endometrial, en la valoración de biopsias endometriales
- ✓ Tener cuidado en NO confundir un adenomioma polipoide atípico con un adenocarcinoma endometriode
- ✓ Tener cuidado en valorar posibles contaminaciones de tejido en la valoración de biopsias.
- ✓ NO hacer el diagnostico de tumor mucinoso primario de ovario si hay tumor extraovárico.
- ✓ NO sobreinterpretar la invasión linfovascular en general y en especial en histerectomias laparoscópicas que se han hecho con "vaginal vacuum".
- ✓ NO interpretar los resultados de inmunohistoquímica sin tener controles internos y externos positivos.
- ✓ NO usar un único anticuerpo solo para corroborar un diagnostico ya que hay solapamiento de resultados (ejemplo, los tumores musculares frecuentemente expresan CD10 como los tumores del estroma endometrial, mejor hacer un panel con CD10, desmina y caldesmon; los tumores musculares epitelioides expresan frecuentemente EMA, mejor añadir, desmina y caldesmon.
- ✓ NO hacer el diagnostico de carcinoma seroso solo basándose en que el tumor sea p53 positivo pues carcinomas de endometrio de alto grado pueden ser positivos.
- ✓ NO hacer el diagnostico de carcinoma de células claras si los patrones típicos no están presentes. La presencia de células claras no se iguala a carcinoma de células claras.
- ✓ NO hacer un diagnóstico de carcinoma endometriode de alto grado en biopsia si estamos seguros de que existe un componente seroso. Se recomienda llamarlo carcinoma de endometrio de alto grado con una nota diciendo que no se puede descartar un componente seroso, así el cirujano puede hacer un estadiaje apropiado incluyendo omento.
- ✓ NO dejar de evaluar la superficie de los ovarios ya que puede ser muy útil para identificar metástasis.
- ✓ NO trabajar de forma aislada. Si no se está seguro o la morfología y la inmunohistoquímica no cuadran pedir siempre una segunda opinión.
- ✓ NO diagnosticar material insuficiente ni tampoco intentar hacer un diagnóstico definitivo, en mujeres post-menopáusicas con endometrio atrófico y sin lesión en la ecografía a las que se les realiza una biopsia de endometrio y se obtiene escaso tejido endometrial sin atípicas, hacer un diagnóstico descriptivo, El objetivo es NO repetir de forma indiscriminada la biopsia de endometrio solo en los casos que clínicamente sea necesario.

- ✓ NO repetir una citología cervico-vaginal, independientemente de la causa de la repetición, en un período inferior a los 3 meses.
- ✓ NO Sustituir la citología cérvico-vaginal con la tinción de Papanicolau por tinciones histoquímicas de p16 o dual (aunque pueden ser complementarias en algunas ocasiones).
- ✓ En el estudio por inmunohistoquímica de las proteínas reparadoras del DNA en cáncer ginecológico (Screening de Síndrome de Lynch), NO valorar la ausencia de expresión nuclear como patológico si no existe expresión en el estroma, miometrio, linfocitos adyacentes al tumor (control interno).
Referencias que apoyan estas recomendaciones:
 - Phillips V, McCluggage WG. Results of a questionnaire regarding criteria for adequacy of endometrial biopsies. *J ClinPathol* 2005;58:417-419.
 - McCluggage WG. My approach to the interpretation of endometrial biopsies and curetings. *J ClinPathol* 2006;59:801-812.
 - M. Arbyn, A. Anttila, J. Jordan, G. Ronco, U. Schenck, N. Segnan, H. G. Wiener, A. Herbert, J. Daniel and L. von Karsa. *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Second Edition*
 - Bojana Djordjevic, Russell R. Broaddus. Role of the clinical pathology laboratory in the evaluation of endometrial carcinoma for Lynch syndrome. *Seminars in Diagnostic Pathology* 2014;31:195-204

EL CLUB DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA RECOMIENDA:

- ✓ NO abrir las piezas quirúrgicas en quirófano para enviar parte del tumor a biología molecular ya que se artefacta el estudio de los márgenes de resección y la cápsula tumoral. La pieza en fresco debe ser valorada por un patólogo que enviará las muestras necesarias a estudio molecular por petición propia o de otros especialistas.

Referencias que apoyan esta recomendación

- Cotton DW, Stephenson TJ. Histopathology for minor surgery. *Histopathology*. 1992 May;20(5):455-6.
- Juan Rosai and Ackerman's *Surgical pathology, ninth edition, Volume I, p29*

EL CLUB DE UROPATOLOGIA RECOMIENDA:

Autores: Inés de Torres, Isabel Trías, Margarita Gimeno y Pilar González-Peramato

- ✓ NO hacer inclusiones parciales de RTU de tumor vesical siempre y cuando el diagnóstico final sea un Ta o un T1 (para estar seguros que se ha descartado la presencia de capa muscular en el material de RTU).
La relevancia de esta recomendación viene determinada por el posible infradiagnóstico de un tumor vesical infiltrante de la capa muscular. El impacto clínico es importante ya que se ha demostrado la mayor agresividad de los tumores de vejiga una vez que invaden la capa muscular propia. La consecuencia sería la progresión de un tumor infiltrante de la muscular propia de la vejiga insuficientemente tratado (por el infradiagnóstico) sin cirugía agresiva (cistectomía).
- ✓ Incluir en el informe anatomopatológico de adenocarcinoma de próstata en biopsia por aguja los datos esenciales recomendados para seleccionar los distintos tratamientos que son: tipo histológico, número de cilindros positivos, localización de los cilindros positivos, cuantificación del tumor, Grado y Score de Gleason y otros sólo si están presentes (extensión extraprostática, infiltración perineural y otros focos de proliferación acinar atípica sospechosos de carcinoma).

Relevancia clínica y población afectada: El carcinoma de próstata supone un importante gasto sanitario ya que es el cáncer más frecuente en varones y en éstos es el responsable del mayor número de muertes cáncer-específico. Muchos de ellos son tratados con cirugía radical, bloqueo hormonal o radioterapia. Sin embargo, actualmente gracias a las medidas de detección precoz (PSA) se están diagnosticando cada vez más carcinomas en fases precoces. Muchos de ellos tendrían un comportamiento clínico indolente (15-84% de los casos nuevos diagnosticados, según las diferentes series). Cada vez más se está propugnando un seguimiento activo de aquellos casos de adenocarcinoma de próstata con bajo riesgo de progresión. Para determinar el riesgo de progresión y planificar el tratamiento de los pacientes con carcinoma de próstata es esencial consignar los parámetros arriba mencionados en las biopsias de próstata por cilindro.

✓ **NO hacer biopsia intraoperatoria de márgenes en prostatectomías radicales.**

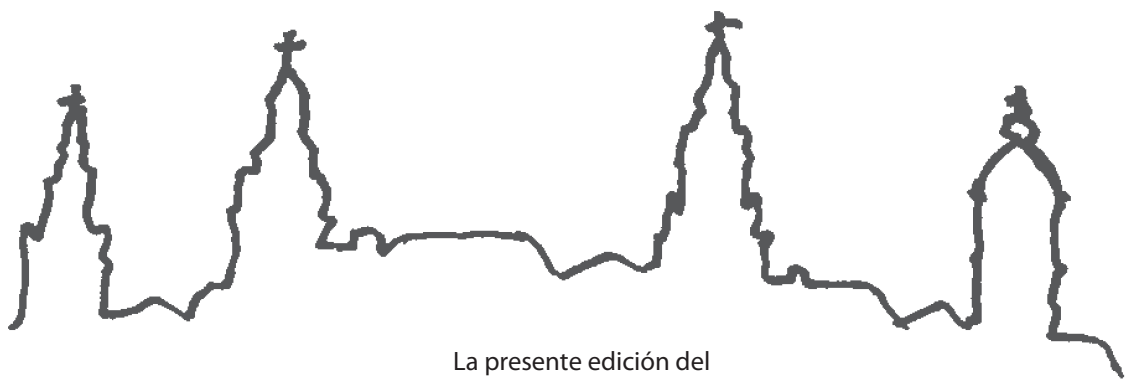
Población afectada: aquellos pacientes con carcinoma de próstata tratados mediante prostatectomía radical. El manejo de estos márgenes en fresco y en congelación puede distorsionar significativamente el análisis final de estos márgenes, que son un criterio pronóstico postquirúrgico

✓ **Incluir en el informe anatomopatológico de tumor testicular de células germinales en piezas de orquiectomía los datos recomendados como pronósticos y/o predictivos de recidiva: tipo histológico (puro vs mixto con uso juicioso de inmunohistoquímica), estadio pTNM, presencia/ausencia de invasión vascular, presencia y porcentaje de carcinoma embrionario, presencia/ausencia de elementos somáticos malignos y estado de los márgenes.**

Referencias que apoyan estas recomendaciones

- Chandra A, Griffiths D, McWilliam LJ. Best practice: gross examination and sampling of surgical specimens from the urinary bladder. *J Clin Pathol.* 2010 Jun;63(6):475-9.
- Amin MB et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Urinary Bladder. Protocol applies primarily to invasive carcinomas and/or associated epithelial lesions, including carcinoma in situ. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. Protocol web posting date: October 2013. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/UrinaryBladder_13protocol_3210.pdf
- Lopez-Beltran A, Bassi PF, Pavone-Macaluso M, Montironi R; European Society of Urology; Urology Working Group. Handling and pathology reporting of specimens with carcinoma of the urinary bladder, ureter, and renal pelvis. A joint proposal of the European Society of Urology and the Urology Working Group. *Virchows Arch.* 2004 Aug;445(2):103-10.
- Amin MB1, Lin DW, Gore JL, Srigley JR, Samaritunga H, Egevad L, Rubin M, Nacey J, Carter HB, Klotz L, Sandler H, Zietman AL, Holden S, Montironi R, Humphrey PA, Evans AJ, Epstein JI, Delahunt B, McKenney JK, Berney D, Wheeler TM, Chinnaiyan AM, True L, Knudsen B, Hammond E. The Critical Role of the Pathologist in Determining Eligibility for Active Surveillance as a Management Option in Patients With Prostate Cancer: Consensus Statement With Recommendations Supported by the College of American Pathologists, International Society of Urological Pathology, Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology, the New Zealand Society of Pathologists and the Prostate Cancer Foundation. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Aug 5. [Epub ahead of print] doi: 10.5858/arpa.2014-0219-SA.
- Srigley JR et al. Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Carcinoma of the Prostate Gland Protocol applies to invasive carcinomas of the prostate gland. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition Protocol web posting date: June 2012. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2012/Prostate_12protocol_3200.pdf
- Chin JL, Srigley J, Mayhew LA, Rumble RB, Crossley C, Hunter A, et al. Guideline for optimization of surgical and pathological quality performance for radical prostatectomy in prostate cancer management: evidentiary base. *Can Urol Assoc J.* 2010 Feb 1;4(1):13-25.
- Winstanley AM1, Mikuz G, Debruyne F, Schulman CC, Parkinson MC; European Association of Pathologists, Urology Division in Florence. Handling and reporting of biopsy and surgical specimens of testicular cancer. *Eur Urol.* 2004 May;45(5):564-73

- *Tickoo SK et al Protocol for the Examination of Specimens From Patients With Malignant Germ Cell and Sex Cord-Stromal Tumors of the Testis. Protocol applies to all malignant germ cell and sex cord-stromal tumors of the testis. Paratesticular malignancies are excluded. Based on AJCC/UICC TNM, 7th edition. Protocol web posting date: October 2013. http://www.cap.org/apps/docs/committees/cancer/cancer_protocols/2013/Testis_13protocol_3300.pdf*



La presente edición del
Libro Blanco 2015 de la Anatomía Patológica en España
se terminó de imprimir en Gráficas Dosbi S.L.
en Vitoria-Gasteiz el 15 de mayo

